Münster.1933.№19 Phil. Diss.

Botanik

# Beiträge zur Histochemie von Zellinwänden

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde der Philosophischen und Naturwissenschaftlichen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster i. Westf.

vorgelegt von

Johannes Kasselmann

aus Papenburg (Ems)

Dissertations-Druckerei Heinr. & J. Lechte, Emsdetten

1933

Botanik

# Beiträge zur Histochemie von Zellinwänden

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde der Philosophischen und Naturwissenschaftlichen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster i. Westf.

vorgelegt von

Johannes Kasselmann

aus Papenburg (Ems)

Universitatis Groninganae Bibliotheca

Gedruckt in der Dissertations-Druckerei Heinr. & J. Lechte, Emsdetten

1933

Dekan: Prof. Dr. Wätjen
Referent: Prof. Dr. Benecke
Tag der mündlichen Prüfung: 3. Juni 1930.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meiner Mutter!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547224_0126

## Inhaltsübersicht.


Seite:

A. Einleitung 1

B. Geschichtlicher Ueberblick 2

C. Reagenzien 8

D. Eigene Untersuchungen 10

Teil I. Die wichtigsten histochemischen Reaktionen von Zellinwänden 10

1. Die Histochemie der Zelluloselamellen 10
   Untersuchungen an:
   a) Baumwollhaaren 10
   b) Kartoffelknollen 14
   c) Radieschen 16
   d) Möhren 17
2. Die Histochemie der kollodischen Zellwände 17
   Untersuchungen an:
   a) Blumenkohl 17
   b) Dem Fruchtfleisch des Apfels 17
3. Die Histochemie der amyloidischen Zellhäute Untersuchungen an Lycopodium clavatum 20
4. Zusammenfassung von Teil I 22

Teil II. Histochemische Reaktionen kollodischer Zellmembranen unter besonderer Berücksichtigung verschiedener Kollenchyme 24

1. Untersuchungen an:
   a) Ricinus communis 24
   b) Cucurbitaceen 27
   c) Labiaten 28
   d) Helianthus annuus 29
   e) Vicia Faba 32
   f) Phuopsis stylosa 32
   g) Hoya carnosa 33
   h) Helodea canadensis 35

Seite:

i) Mimosa pudica 35
k) Blattgeweben 38
l) Ilex aquifolium 40
m) Tilia ulmifolia 41
n) Wurzeln von Zea Mays 42
2. Zusammenfassung von Teil II 45
E. Literaturverzeichnis 49

# A. Einleitung.

Als Zellinwände hat Fr. Schwarz (1924) solche pflanzliche Wandlamellen bezeichnet, in denen im Gegensatz zu Lignin- und Kutinlamellen bei der Färbung mikroskopischer Schnitte mit substantiven Farbstoffen diese in der Farbe der größten Teilchen abgelagert werden. „Hierher gehören", so schreibt unser Autor, „diejenigen Zellwände, welche nicht oder wenig verholzt sind, auch keine fettartigen Stoffe enthalten, so die Wände von Kambiumzellen, unverholzten Parenchymzellen und Bastfasern, Kollenchymzellen, Reservezellulosezellen. In der Hauptsache bestehen sie aus Zellulose, Hemizellulose und Pektinstoffen". Zellinwände sind im wesentlichen also dieselben Zellwände, die H. Ziegenspeck (1925) in seinen umfangreichen Studien durch ihr Verhalten gegenüber jodhaltigen Reagenzien weiter zu differenzieren versucht hat.

Nachdem nun O. Hopmann (1930) vor einiger Zeit eine Anzahl der von Ziegenspeck behandelten Fragen, vor allem die Histochemie „amyloidischer Membranen" etwas eingehender studiert hat, schien es von Bedeutung, einen Punkt, den Hopmann (S. 30 Anm. 1) mit Absicht nur kurz gestreift hatte, nämlich die Frage nach der histochemischen Charakterisierung der von Ziegenspeck nach ihrem Vorkommen in Kollenchymen sogenannten kollodischen Zellwandlamellen etwas näher ins Auge zu fassen. Nach Abschluß meiner eignen Untersuchungen erschien die Arbeit von Pringsheim (1931), in der neben anderen auch die eben genannten Probleme erörtert werden, und die von mir noch benutzt werden konnte.[1])

[1]) Später erschienene Literatur (z. B. A. Künemund, Bot. Arch. 1932, Bd. 34, S. 462) ist nicht mehr berücksichtigt.

## B. Geschichtlicher Ueberblick.

Ich schicke eine gedrängte geschichtliche Einleitung über die Histochemie der Kollenchyme voraus.

Wie von verschiedenen Autoren hervorgehoben worden ist, schrieb schon de Bary (1877, S. 127) den Kollenchymwänden im mikroskopischen Bild einen charakteristischen bläulichen Glanz zu. Chlorzinkjod färbt solche Wände nach de Bary hellblau (s. auch Schacht, Lehrb. d. Anat., S. 195); leichte Erwärmung mit Kalilauge bewirkt, daß sie durch Jodjodkaliumlösung sofort intensiv blau werden. (Sambucus, Lamium, Rumex usw.) „All das deutet offenbar auf eine besondere Modifikation von Zellulose hin, die in diesen Wänden vorliegt." Ferner findet de Bary, daß die „relativ reinen Zelluloseschichten" der Epidermismembran, jener wasserreichen, stark lichtbrechenden Modifikation der Zellulosehäute angehören, die in der Kollenchymmembran ihre charakteristische Ausbildung findet. De Bary fügt hinzu, daß genauere Detailuntersuchungen darüber fehlen. Das gilt auch heute noch: Soviel seither über die Funktion des Kollenchyms gearbeitet worden ist — ich erinnere nur an die zahlreichen Arbeiten aus der Schwendenerschen Schule über die physikalischen Eigenschaften und den Wassergehalt des Kollenchyms, über seine Funktion als Festigungsgewebe, über die Frage, wieweit es auch als Wasserspeicher dient und Uebergänge zum typischen Wassergewebe zeigt (s. Haberlandt 1924, S. 371) —, so wenig ist die Histochemie der Kollenchymmembranen zunächst weiter gefördert worden.

Eine kritische Behandlung der Frage finden wir dann in dem Mikroskopischen Praktikum von Meyer. Halten wir uns an die 3. Auflage, 1915, S. 217, so hören wir, daß die Kollenchymmembran in Kupferoxydammoniak quillt, ohne sich zu lösen, wobei die Schichtung deutlich hervor tritt; Rutheniumrot färbt das Kollenchym von Cucurbita sehr schnell. Außerdem heißt es auf S. 41: „Kollenchymzellwände färben sich hellblau, nach kurzem Erwärmen mit Kalilauge tiefbau mit Chlorzinkjod". Schmidt (1917) sagt, daß das Kürbiskollenchym sich nach einem wenige Minuten langen

Kochen in 20%iger Kalilauge deutlich, aber „oberflächlich" bläut. (Während Siebröhren nach solcher Behandlung eine kaum sichtbare Bläuung ihrer Wände aufweisen.)[2])

In der Tat läßt sich, z. B. bei Coleus leicht nachweisen, daß sich das Kollenchym nach kurzer Erwärmung in 10%iger Kalilauge mit Jodjodkalium-Lösung schön himmelblau färben läßt.

Ich unterbreche den geschichtlichen Rückblick, um daran zu erinnern, daß nicht nur die Kollenchymzellwände, sondern auch sogenannte typische Zelluloselamellen durch heiße Kalilauge in einen Zustand versetzt werden können, in welchem sie sich durch Jodjodkalium-Lösungen blau färben, („Mercerisierung", vergleiche u. a. van Wisselingh, S. 8 f.; Ziegenspeck, 1925 S. 312; Hopmann, S. 17 oder Strasburgers Praktikum 1923, 7. Aufl., S. 172). A. Meyer, sagt, daß reine Zelluloselamellen durch Kochen in 20%iger Kalilauge nur wenig verändert werden, sich aber dann in Jodjodkalium-Lösungen oberflächlich bläuen. Damit nähern sich Zelluloselamellen in histochemischer Hinsicht offenbar sehr den Kollenchymlamellen, und es war der Versuch geboten zu untersuchen, ob man wirklich mittels Kalilauge-Behandlung und nachfolgender Jodjodkalium-Färbung die beiden fraglichen „Zellulosemodifikationen" in einem und demselben mikroskopischen Schnitte unterscheiden kann. Ich benutzte dazu Querschnitte durch ausgewachsene Internodien von Helianthus annuus von von ca. 5 mm Durchmesser. Legt man solche Schnitte in Chlorzinkjod-Lösung, so färbt sich alles, was der Botaniker schlechthin Zellulose nennt, blauviolett, also Epidermiswände, Haare, Kollenchym, Rinde, Mark, die zwischen den Gefäßstrahlen liegenden Parenchymzellwände und Siebteile, ohne daß ein Unterschied in der Nuancierung sichtbar wäre. Die verholzten Lamellen, d. h. Gefäße und periphere Markzellen, färben sich gelb. Legt man nun solche Schnitte für ganz kurze Zeit, etwa 5 Sekunden, in siedende 10 %ige Kalilauge, wässert und behandelt sie dann für kurze Zeit mit stark verdünnter Salzsäure und wäscht sie abermals gründlich aus, so färbt sich nunmehr Epidermis und Kollenchym in Jodjodkalium-Lösung bläulich, während die Rinde, soweit sie nicht kollenchymatisch ist, und das Mark, soweit es nicht verholzt ist, in dem genannten Reagens farblos bleiben. Alles Verholzte wird, wie üblich, gelb. Auf diese Weise ist also tatsächlich eine Unterscheidung zwischen Kollenchymwänden und Zelluloselamellen möglich. Anders aber, wenn man längere Zeit, etwa 1 Minute lang, in 10 %iger Kalilauge erhitzt. Nunmehr werden nach Jodbehandlung nicht nur die Kollenchymlamellen und die Epidermiswände, sondern auch Mark und Rinde dunkelblau mit einem Stich ins Violette. Eine Unterscheidung zwischen den beiden Zellwandmodifikationen ist dann nicht mehr sicher möglich. Die de Bary—A. Meyersche Unterscheidung zwischen Kollenchym- und Zellulosewänden ist also nur möglich, wenn man die Laugenbehandlung nicht zu lange ausdehnt. Uebrigens scheint es, daß jüngere und ältere Zelluloselamellen etwas verschieden gegen Kalilauge reagieren. So sah ich bei Lamium Orvala, daß in jüngeren Internodien nach kurzem Kochen in dieser Lauge das Mark sich in Jodjodkalium-Lösung bläute, nicht aber in älteren Internodien, ohne daß in diesen das Mark verholzt gewesen wäre.

In der geschichtlichen Uebersicht fortfahrend, werfen wir einen Blick auf die Haberlandtschen Arbeiten (1918), in denen ebenfalls eine weitere Differenzierung derjenigen Zellwandlamellen, welche sich mit Chlorzinkjod blauviolett färben, versucht wird und

---

[2]) Weitere Literatur über das Kollenchym: — Ambronn 1881 — Giltay, 1881, 82 — van Wisselingh, 1898 — Lecomte, 1889 — Müller, 1890 — Lesage, 1891 — Cohn, 1892 — Léger, 1897 — (Différenciation nacrée) — Hill, 1901 — Chauveaud, 1911 — Rothert, 1913 — über verholztes Kollenchym vgl. Funk, 1912/13.

zwar mittels Verdauungsversuchen; er konnte nachweisen, daß durch das Lebersekret von Schnecken (Limax cinereus, Helix nemoralis) zwar Palisaden- und Schwammparenchym des Kohlblattes gelöst werden, nicht aber Kollenchym und Siebteil, welch letztere also offenbar aus besonderen Zellulosearten bestehen (s. auch Hopmann, S. 24). Das Innenhäutchen der Kollenchymzellen und die innere Lamelle der Epidermiszellen, die sich mit Chlorzinkjod dunkler als die weiter nach außen gelegenen Wandlamellen färben, werden von Schneckencytase gelöst.

1925 führte Ziegenspeck in seiner Arbeit, welche von amyloidischen Zellwänden handelt, den Begriff der Kollose ein. Diese Modifikation von Kohlehydratlamellen soll sich von amyloidischen Wänden dadurch unterscheiden lassen, daß sie nicht mit gewöhnlicher, sondern mit saurer Jodjodkalium-Lösung (25% HCl) unter Blaufärbung reagiert. Kollose soll an solchen Stellen des Pflanzenkörpers mit Vorliebe auftreten, die besonders häufig stark gedehnt werden. Dieser Versuch der Unterscheidung zwischen amyloidischen und kollodischen Lamellen ist zweifellos sehr bemerkenswert. (Vgl. auch Ziegenspeck 1928, S. 458.)

Im übrigen ist die Abgrenzung beider Modifikationen in den Einzelfällen bei Ziegenspeck keine sehr scharfe: Unser Autor redet häufig da von amyloidischer Färbung, wo nach seinen eigenen Ausführungen der Ausdruck „kollodisch" ebensogut oder besser am Platze gewesen wäre. Er gibt zwar genaue Daten über die Herstellung von Eau de Javelle, macht aber später nicht immer Angaben darüber, ob er Jodbläuungen mit oder ohne vorherige Anwendung der Lauge erhalten habe. Fast scheint es so, als ob er seine Schnitte immer in Eau de Javelle gebadet hätte. Wir werden aber hören, daß es nach dieser Behandlung keineswegs notwendig, wenn auch manchmal vorteilhaft ist, sauere statt neutral reagierender Jodjodkalium-Lösungen anzuwenden, um kollodische Membranen zu färben. So ist bei Ziegenspeck die Grenze zwischen amyloidischen und kollodischen Lamellen von vorneherein verwischt.

Sachs (1862) hatte gefunden, daß sich „Kollenchymwände, Holzkambien und junge Bastzellen" blau färben, wenn man sie mit Kupfersulfat durchtränkt und dann in kalte 50%ige Kalilauge einlegt. Ziegenspeck glaubte zunächst, daß diese Angaben von Sachs „zur Kollose gehören könnten". (1925, S. 324/25) Da sich aber nach seinen Untersuchungen Siebteile nach Behandlung mit

Eau de Javelle und Kupfersulfat und Kalilauge nicht färbten, wohl aber mit Jodlösungen noch amyloidisch reagierten, gelangte er zu der Meinung, daß die Reaktionen mit Kupfer — wir wollen sie im Folgenden der Einfachheit halber „Sachs'sche Reaktion" nennen — mit der Kollose und dem Amyloid „nichts zu tun haben". Im übrigen vertritt Ziegenspeck die Meinung, daß der Zustand aller pflanzlichen Zellulosewände vom Amyloid über die Kollose zur Zellulose führe.

Auf Ziegenspecks Untersuchungen weiter bauend suchte dann Hopmann weitere Klärung herbeizuführen. Um sich nicht in allzu vielen Einzelheiten zu verlieren, studierte er im wesentlichen nur die amyloidischen Zellwände von Lycopodium clavatum genauer, verzichtete aber auf die Verwendung sauerer Jodjodkalium-Lösungen und überhaupt auf eine eingehende Untersuchung von Kollenchymlamellen. Bei der Nachprüfung der Ziegenspeckschen Angabe machte ihm besonders die Aufhellung der Frage Schwierigkeiten, ob und in wieweit die vorhergehende Verwendung von Eau de Javelle unbedingt nötig sei. Er kam dazu (S. 12), die „amyloidischen Wandlamellen" in zwei Gruppen zu teilen: 1. in solche, bei denen die Blaufärbung durch Jodjodkalium-Lösung ohne weitere Vorbehandlung zweifelsfrei festgestellt werden kann, und 2. in solche, bei denen die Bläuung erst nach kürzerer oder längerer Eau de Javelle-Behandlung erzielbar ist. Er trennt auch die beiden Fälle nicht scharf und spricht im Anschluß an Ziegenspeck nur von Amyloidie. Als Beispiel für den ersten Fall nennt er die Siebröhren von Lycopodium, für den zweiten Fall die Zellwände der mittleren Außenrinde derselben Pflanze. Diese werden erst durch Behandlung mit Eau de Javelle während mehrerer Stunden amyloidisch und färben sich dann mit Jodjodkalium-Lösungen nicht rein blau, sondern mehr blaugrau. Der Farbton, den sie dann annehmen, wird später von Pringsheim als „Hopmannton" bezeichnet. Diesen Ton hat Ziegenspeck nicht beachtet.[3])

Pringsheim (1931) versuchte den Begriff der Kollose etwas schärfer zu begrenzen; sie hätte nach ihm folgende Eigenschaften: Eigenartigen Glanz, schwere Löslichkeit in Säuren, Schweizers Reagenz und Schneckencytase, Verdaulichkeit im Darme des Menschen,[4]) Blaufärbung (Blaugraufärbung) nach Behandlung mit

[3]) Nachtr. Anm.: Vergleiche noch Märkert, Bot. Arch. 1931, Bd. 33, p. 533.
[4]) Die Verdaulichkeit im Darm des Menschen dürfte wohl nicht zutreffen. (s. Haberlandt 1915, S. 503).

Eau de Javelle in saurer Jod-Lösung, ferner in Reagenzien, die komplex gebundenes Kupfer enthalten, sowie eine gewisse plastische Dehnbarkeit, welche die der Zellulose übertrifft. Der Meinung Ziegenspecks, daß alle Zellulosewände einen amyloidischen, dann einen kollodischen Zustand durchmachen, steht er mit Recht sehr skeptisch gegenüber.

Wichtig und bemerkenswert ist sein Versuch, einen Anschluß zu gewinnen an die Untersuchungen der Chemiker über die Kohlehydrate der Zellwände, zumal an die Untersuchungen seines Bruders H. Pringsheim.[5])

Der geschichtliche Rückblick auf Löslichkeitsverhältnisse und Jodfärbung von Zellwänden sei mit dem Hinweis beschlossen, daß die Darstellung, die Nägeli und Schwendener in dem „Mikroskop" (2. Aufl. 1877, S. 517) geben, wenngleich überholt, so doch auch heute noch sehr lesenswert ist. Die Meinung, daß sich in wässerigen Jodjodkalium-Lösungen Jodwasserstoffsäure bildet und für den Färbungseffekt verantwortlich zu machen sei, dürfte nicht zutreffen. Nicht ohne Interesse ist folgende Bemerkung (S. 518): „Es scheint überhaupt eine allgemeine Eigenschaft der Membranen zu sein, daß sie einen Teil ihrer Substanz an Lösungsmittel abgeben, welchem der andere Teil widersteht."

In unseren eigenen, jetzt zu schildernden Untersuchungen wollen wir den Versuch machen, nur solche mit Chlorzinkjod sich blauviolett färbende Zellwände als amyloidisch zu bezeichnen, die in Jodjodkalium-Lösungen von bestimmter Konzentration (z. B. nach A. Meyer) ohne vorherige Anwendung von Eau de Javelle oder anderen aufquellenden oder sonst eingreifenden Mitteln blau gefärbt werden können.[6]) Amyloidisch wären hiernach zum Beispiel die Siebröhrenmembranen von Lycopodium, die der Auflösung verfallenden Tracheenquerwände höherer Pflanzen, auch die Amyloidzwickel Ziegenspecks. Wir verwahren uns ausdrücklich gegen die Annahme, als ob unter dieser histochemischen Bezeichnungsweise auch eine gleiche chemische Zusammensetzung der betreffenden Zellwände verstanden werden solle. Auch ist die Frage, ob „Amyloid" ein chemisches Individuum oder ein Gemisch

[5]) Es sei noch hingewiesen auf die Untersuchungen Andersons (1927), nach denen das Kollenchym der Tomate weder chemisch einheitlich sei, noch im physikalischen Sinne eine homogene Struktur besitzen soll. Die Verdickungen der Kanten besitzen eine blättrige Struktur und bestehen aus abwechselnden Pektin- und Zelluloselamellen. Die Mittellamelle soll nur Pektinstoffe enthalten; solche bleiben allein in den Zellwänden übrig, wenn man die Zellulose entfernt. Ueber Feinstrukturen pflanzlicher Zellwände vergl. auch van Wisselingh, 1925, S. 204.

Wegen der „amyloidischen Entartung", welche die Zellwände der Kartoffel durch die Tätigkeit des Bacillus macerans erfahren, sei auf die Arbeit von Zacharow (1930) verwiesen.

[6]) van Wisselingh nennt „amyloidisch" solche Wände, welche nicht durch Jodjodkalium-Lösungen, die 1/25 % Jod, wohl aber durch solche, die 1/5 % Jod enthalten, blaugefärbt werden können. Nur dann gelingt es, sie in Lösungen die nur 1/25 % Jod enthalten, blau zu färben, wenn man außerdem 10 % Schwefelsäure hinzusetzt (Wisselingh's Amyloid-Reagens).

verschiedener Substanzen sei, mittels mikroskopischer Methoden nicht zu lösen. Da sich, soweit bekannt, alle „Amyloide" in verdünnten Säuren lösen, kann man sie mit Ziegenspeck zu den Hemizellulosen rechnen. Unpraktisch wäre es aber, sie als Hydrozellulosen zu bezeichnen. Die Sachs'sche Reaktion fällt, soweit untersucht, positiv aus. (Ziegenspeck, 1925, S. 324.).

Als kollodisch bezeichnen wir dann diejenigen Zellwandlamellen, welche sich ebenso wie die amyloidischen mit Chlorzinkjod blauviolett färben, sich aber mit Jodjodkalium-Lösungen ohne Vorbehandlung nicht deutlich bläuen. Um saubere Jodfärbung zu erzielen, sei sie blau oder blaugrau, muß man vielmehr vorher die Schnitte mit Eau de Javelle behandeln, und es muß dann weiter in jedem Einzelfall untersucht werden, ob man, was vielfach zutrifft, im Anschluß an diese Behandlung besser neutrale oder die Ziegenspecksche saure Jodlösung verwendet. Natürlich darf im letzteren Falle unter gar keinen Umständen eine so starke Säure verwendet werden, daß sie die allbekannte Zellulosereaktion Blaufärbung mit Jod und Schwefelsäure auslösen würde. Kupferoxydammoniak färbt kollodische Membranen blau.[7])

Als Zellulose lamellen endlich wollen wir solche Zellinmembranen bezeichnen, die sich mit Chlorzinkjod ebenfalls blauviolett färben, im übrigen aber weder amyloidischen noch kollodischen Charakter tragen, d. h. sich mit Jodjodkalium-Lösungen auch nach vorhergehender Eau de Javelle-Behandlung weder blau färben noch den Hopmannton annehmen. Kupferoxydammoniak färbt Zelluloselamellen nicht. Es braucht kaum betont zu werden, daß wir mit dem Ausdruck Zelluloselamellen nicht sagen wollen, daß sie nur aus Zellulose (Dextrosozellulose) bestehen.

Die genannten drei Modifikationen sind, soviel ich gesehen habe, dadurch ausgezeichnet, daß sie sich mit Rutheniumrotlösungen mehr oder minder intensiv färben; sie führen also außer Kohlehydraten im engeren Sinne auch „Pektinkörper.[8])

---

[7]) Daß wegen der in den einzelnen Fällen etwas verschiedenen Reaktionen gegenüber Jodlösungen der Ausdruck „kollodische Lamellen" in unserem Sinn ein Sammelbegriff ist, der mit fortschreitender Kenntnis aufgelöst werden wird, ist aus unserer Darstellung noch zu entnehmen. Außerdem sei gleich hier betont, daß wir, wenn wir mit Pringsheim die Blaufärbung in Reagenzien, die komplexes Kupfer enthalten, als charakteristisch für kollodische Wandlamellen hinstellen, die Wände der Siebteile und der Kambien nicht oder doch nicht alle zu den kollodischen rechnen; denn wir können die Meinung Ziegenspecks bestätigen, daß sie nicht unbedingt die Sachssche Reaktion geben. (Näheres im Teil II).

[8]) Mit Recht hat A. Meyer für die genannten Zellinwände, die auch heute noch häufig unter der zu engen Bezeichnung „Zellulosewände" zusammengefaßt

## C. Reagenzien.

Wir verwenden zum großen Teil dieselben Reagenzien wie Hopmann (S. 13).

1. Die schwache Jodjodkalium-Lösung von A. Meyer; sie enthält 1% Jod, ½% Jodkalium.
2. Lösung 1, aber mit der doppelten Jodkaliummenge.
3. Das van Wisseiinghsche Amyloidreagens: 10% Schwefelsäure, 0,04% Jod, 0,4% Jodkalium.

Mit Hopmann wollen wir unter „van Wisselinghs Reagens" nur diese von ihrem Autor sogenannte Jodlösung verstehen; daß sonst Mißverständnisse möglich sind, zeigt eine Notiz von Pringsheim, l. c. S. 781, welcher im Gegensatz zu Hopmann glaubt, daß bei sehr langer Einwirkung das Wisselinghsche Reagens auch die Zellulose blau färbt. Dieser Gegensatz ist so zu erklären, daß das von Pringsheim sogenannte Wisselinghsche Reagens zwar, wie das echte, 10 % Schwefelsäure enthält, außerdem aber 1 % Jod, also 25 mal soviel als das echte.

4. Die von Ziegenspeck eingeführte saure Jodlösung, die zwar Kollose, zumal nach geeigneter Vorbehandlung mit Eau de Javelle, nicht aber Zellulose bläut. Leider ist, wie so häufig, bei Ziegenspeck aus seiner Darstellung nicht sicher zu entnehmen, wie er seine Reagenzien angewendet hat, ob zum Beispiel Säure und Jodlösung gleichzeitig wirkten oder zuerst die Säure allein, dann die Jodjodkalium-Lösung nach Auswaschen der Säure. Ich glaube annehmen zu dürfen, daß er eine Lösung verwendet hat, die 1% Jodkalium und 1% Jod in 25% Salzsäure gelöst enthielt. Jedenfalls nenne ich diese Lösung „Ziegenspecksches Kollose-Reagens". Es ist häufig zu erneuern, unbedingt dann, wenn es sich zeigt, daß ein Teil des gelösten Jods ausgefallen ist. Diesem Reagens ähnlich wirkt die von Pringsheim angewandte saure Jodjodkalium-Lösung, bei der 10%ige Schwefelsäure statt 25%iger Salzsäure als Lösungsmittel dient.
5. Die Chlorzinkjod-Lösung, welche verwendet wurde, war nach dem im Deutschen Arzneibuch angegebenen Rezepte her-

---

werden, den Namen Kohlehydratlamellen eingeführt, wobei allerdings der Begriff Kohlehydrat soweit gefaßt werden muß, daß man auch die Pektinkörper darunter einbegreift.

gestellt: 66 Gramm Chlorzink in 34 Gramm Wasser, dazu 6 Gramm Jodkalium und Jod bis zur Sättigung. (D. A. B. 6, S. 763; vgl. im übrigen wegen verschiedenartig hergestellter Chlorzinkjod-Lösungen van Wisselingh 1898, S. 307).

6. In vereinzelten Fällen kam auch Chloraljod zur Verwendung: 7 Teile Chloralhydrat, 3,5 Teile Wasser, 0,4 Teile Jodkalium, 0,2 Teile Jod. (Vgl. Gilg-Schürhoff, Pharmakognosie, 1927, 4. Auflage, S. 469.)
7. Als Eau de Javelle wurde, falls nichts anderes gesagt wird, das Reagens nach A. Meyer angewendet (s. Bot. Prakt., 1915, S. 40).[9])
8. Rutheniumrot: 0,005 Gramm in 100 Gramm Wasser.
9. Die gelegentlich verwendeten Farbstoffe, Methylenblau B. B. (Merck), ferner Kongorot, Neutralrot, Brillantkongoblau wurden in 0,005%iger wässeriger Lösung angewendet.

Die Wirkungsdauer der verschiedenen Jodlösungen ist für den Erfolg von großer Bedeutung; das wird zumal auch für angesäuerte Jodlösungen gelten. Ich pflege dann zu beobachten, wenn das Reagens 2—5 Minuten eingewirkt hat (vgl. Hopmann, S. 19). Pringsheim ließ seine Schnitte unter Umständen bis zu 1 Stunde in den sauren Jodlösungen liegen, ehe er sie beobachtete.

Es kamen ausschließlich Freihandschnitte zur Verwendung und zwar Querschnitte.[10])

Im weiteren Teil der Arbeit werden folgende Abkürzungen benutzt:

JJK. = Jodjodkalium-Lösung;
ZKR. = Ziegenspecks Kollose-Reagens;
ClZnJ. = Chlorzinkjod-Lösung;
E.d.J. = Eau de Javelle.

---

[9]) F. Schwarz (1924) wendete sehr verdünnte Eau de Javelle an, die höchstens „1—2 % wirksames Chlor" enthielt und ließ sie nur wenige Minuten wirken, um, wie er sagt, zu verhindern, daß durch die Lauge die Zellulose in Oxyzellulose überführt wird.

[10]) Spätere Untersuchungen müßten sich auf Mikrotomschnitte von bestimmter Dicke stützen.

## D. Eigene Untersuchungen.

Wir gliedern unsere eigenen Untersuchungen in zwei Teile. Im Teil I sollen an bestimmten, willkürlich herausgegriffenen, aber typischen Beispielen die wichtigsten histochemischen Reaktionen von Zelluloselamellen, kollodischen und amyloidischen Membranen vergleichend behandelt werden. Als Beispiel für Zelluloselamellen wählen wir die der Baumwollhaare, die Zellen der Kartoffelknolle und des Hypokotyls des Radieschens. Als Beispiel für kollodische Wände dienen die des Fruchtfleisches des Apfels und einiger anderer Früchte. Um Amyloidlamellen zu studieren, greifen wir zurück auf die Membranen des Siebteils und des Perizykels von Lycopodium clavatum.

Im Teil II sollen einige weitere Beispiele für kollodische Zellmembranen unter besonderer Berücksichtigung verschiedener Kollenchyme aufgeführt werden.

### TEIL I.

### Die wichtigsten histochemischen Reaktionen von Zellinwänden.

#### *1. Die Histochemie von Zelluloselamellen.*

*a) Baumwollhaare.* Wir verwenden als Ausgangsmaterial Baumwolle aus der Sammlung des Botanischen Instituts, die wir mit Aether entfetten. Sie zeigt die bekannten Reaktionen mit Schweizers Reagens, ClZnJ., JJK., Rutheniumrot und färbt sich nicht in van Wisselinghs Reagens (vgl. Hopmann S. 17). Vor allem war es wichtig, die noch nicht genügend geklärte Frage zu erledigen, wie sich die Baumwollfaser, sei es im nicht weiter vorbehandelten Zustande, sei es nach der Einwirkung verschiedener Quellungs- oder Reinigungsmittel, mit anderen Worten wie sich mehr oder minder reine Zellulose gegenüber dem ZKR. verhält, um festzustellen, inwieweit es möglich ist, mittels dieses Reagens' Zellulose- und kollodische Lamellen im mikroskopischen Bild sicher zu unterscheiden.

Es zeigt sich nun, daß nicht weiter vorbehandelte Baumwollfaser sich in ZKR. dunkelbraunviolett färbt, jedenfalls nicht blau bis blaugrau. Längeres Auskochen in Wasser ändert nichts an dem Ergebnis.

Wirkung von E.d.J.: Wird die Faser etwa 1 Tag lang in E.d.J. eingelegt, so tritt bei nachheriger Einwirkung von ZKR. ebenfalls keine kollodische Färbung hervor. Erst nach sehr langer, eventuell wochenlanger Einwirkung von E.d.J. zeigt die Faser an Stelle jener dunkelbraunvioletten Färbung eine ganz helle Tönung in ZKR., die an den Hopmannton erinnert. Vielleicht ist diese ganz schwache Färbung eine Folge der alkalischen Reaktion der E.d.J. (Siehe unten.)

Wirkung von Säuren: Kocht man Baumwolle etwa 1 bis 2 Stunden am Rückflußkühler in 4,2%iger HCl, so zerfällt sie bekanntlich in kleine Stückchen und ihre Wände färben sich dann nach gründlichem Auswaschen in Wasser, verdünntem Ammoniak und wiederum Wasser in JJK. und auch in ZKR. nicht mehr. Nur wenn man diese Reagenzien sehr lange, stundenlang einwirken läßt, so nimmt die Faser in ihnen einen sehr hellen blaugrauen Ton an, einen, man könnte sagen: ganz schwachen Hopmannton. — Ich untersuchte noch die Wirkung von 37%iger HCl (sp. Gew. 1,19). Bei Raumtemperatur, wenige Minuten bis 2 Stunden damit behandelt, hatte die Faser ihre Reaktion gegen Jodlösungen noch nicht verändert. Erst nach ca. 12-stündiger Wirkung färbte sie sich in JJK. oder ZKR. nicht mehr dunkelbraunviolett, sondern ganz hell, in einem schwachen, aber doch unverkennbaren Hopmannton. Dieser Ton, der zweifellos darauf beruht, daß die Zellulose durch die lange Behandlung mit starker Säure angegriffen wird, schwindet auch dann nicht, wenn man die Säure viele Tage einwirken läßt.

Als Ergebnis können wir also feststellen, daß man bei histochemischen Untersuchungen keine Gefahr läuft, durch Wirkung schwacher Säuren oder durch ein kurzes E.d.J.-Bad unbeabsichtigterweise Zelluloselamellen in kollodische zu verwandeln, was zu Täuschungen Veranlassung geben könnte. — Nur eine ganz schwach hellblaugraue Färbung von Zelluloselamellen hat man bei etwas kräftiger Behandlung zu gewärtigen, sie läßt sich aber nicht mit der nachher zu schildernden Färbung kollodischer Lamellen verwechseln.

Wirkung von Alkalien: Wie oben (S. 3) schon vorweggenommen, werden Zellulosewände durch Alkalien leicht derart

verwandelt, daß sie sich nunmehr mit Jodlösungen bläuen. Wie verhalten sich nun Baumwollfasern in dieser Hinsicht? Behandelt man Baumwolle 1/4 bis 3 Stunden lang in 10%iger KOH auf dem Wasserbade, so ändern sich dadurch ihre Reaktionen gegenüber JJK. oder ZKR. nicht. Die Zellulose der Baumwollfasern wird also dadurch nicht angegriffen. Anders, wenn man 25%ige KOH z. B. 1 Stunde lang, sei es auch nur bei Raumtemperatur, einwirken läßt: Die Faser färbt sich nun nach gründlichem Auswaschen der Lauge in JJK. graublau mit einem violetten Farbton, in ZKR. ebenso, aber dunkler.

Nun war noch die Frage zu klären, ob diese durch die KOH-Behandlung bedingte graublaue (violette) Verfärbung der Faser in Jodlösungen auf einer Veränderung der Zellulose selbst durch die Lauge beruht oder auf der Einwirkung der Lauge auf Beimengungen (Hemizellulosen oder ähnlichem).

Es wurde, um diese Frage zu entscheiden, Baumwolle, die, wie oben geschildert, durch längeres Kochen in verdünnter Salzsäure gereinigt worden war, der KOH-Behandlung unterworfen. Auch solche gereinigte Zellulose wird durch 25%ige KOH derart verändert, daß sie in JJK. oder in ZKR. sich dunkelblaugrau färbt, während sie ohne KOH -Behandlung farblos oder annähernd farblos bleibt, wenn die Jodreagenzien nicht allzu lange wirken. Es kann noch hinzugefügt werden, daß solche durch KOH angegriffene Zellulose sich zwar mit ClZnJ. noch färbt, aber eher etwas mehr rötlich-violett mit grauem Ton als wie nicht mit KOH behandelte Zellulose, welche entschieden mehr blauviolett wird unter dem Einfluß von ClZnJ.

Um all diese Ergebnisse noch mehr zu bekräftigen, wurden noch folgende vier Baumwollproben hergestellt. Baumwolle wurde:

1. 8 Stunden in 3,6%iger HCl am Rückflußkühler gekocht, dann mit Wasser, äußerst verdünntem Ammoniak und endlich wieder mit Wasser erschöpfend ausgewaschen.
2. = 1, aber nach der Säurebehandlung noch 24 Stunden in E.d.J. gebadet und ausgewaschen.
3. 24 Stunden in E.d.J. gebadet. (Hierbei wurde Mercks E.d.J., 19 Grad Bé, verwendet.)
4. = 3, aber nach der E.d.J.-Behandlung mehrmals gewässert und mit kochender 3,6%iger HCl behandelt u. ausgewaschen.

Werden diese Proben in ZKR. gelegt, so färben sich 1 und 2 sehr hell blaugrau (Dauer der ZKR.-Wirkung ca. 8 Stunden), 4 ähnlich, vielleicht etwas dunkler, aber 3 braungrauviolett. Diese Resultate entsprechen ganz den obigen. Probe 1, das heißt möglichst reine Zellulose, wurde nun nochmals in 25%ige KOH für 20 Minuten eingelegt, gründlich gewässert und auf ihr Verhalten gegen JJK. und ZKR. geprüft. Sie wurde nunmehr dunkelblaugrau, war also, wie oben schon gefunden, durch die KOH angegriffen worden und reagierte mehr oder weniger kollodisch.

Untersucht man die vier Proben schließlich nach einer kurzen Behandlung mit 10%iger KOH, so ändert das nichts an dem Verhalten gegen Jodlösungen.

Gegenüber ClZnJ. unterscheiden sich die vier Proben nur insofern, als die Probe 3, d. h. dieselbe, die sich in Jodlösungen stark verfärbt, sich mehr rötlich-violett, etwas weniger rein färbt gegenüber den anderen, die mehr blauviolett erscheinen.

Farbstoffe: Einige Versuche mit Farbstoffen, in welche Proben von 1, 2, 3 und 4 gelegt wurden, ergaben folgendes: Rutheniumrot, das unbehandelte Fasern färbt, ließ von den vier Proben nur bei 2, 3 und 4, nicht aber bei 1, eine Färbung erkennen. Daß sich Probe 1, reine Zellulose, nicht mit Rutheniumrot färbte, steht in Uebereinstimmung mit den alten Mangin schen Erfahrungen. Wenn aber Probe 2 sich färbt, so gewinnt man den Eindruck, daß E.d.J. aus reiner Zellulose Stoffe bildet, die wie Pektinkörper reagieren. Kongorot färbt sowohl unbehandelte Fasern als auch alle vier Proben ziemlich gleich, etwas gelblichrot. Brillantkongoblau wurde als substantiver Farbstoff geprüft; er färbte 1, 2, 3 und 4 ziemlich gleich blau, mit einem kleinen Stich ins Violette.

Anhang: Es wurden einige Versuche mit Zellulose gemacht, die durch Auflösen von Baumwolle in Schweizers Reagens und Ausfällung mit Essigsäure hergestellt war. Entweder erhielt man ein schwammiges Produkt oder eine glatte Haut — ähnlich dem käuflichen Zellophan — letztere, wenn man die Säure vorsichtig über die Lösung der Baumwolle in Schweizers Reagens schichtete. Beide Präparate zeigten dieselben Färbungen gegenüber Jodlösungen: Violette Färbung in ClZnJ, in Z.K.R. wurden sie braun mit violettem Unterton, um, in Wasser gelegt, über Blau zu verblassen.

Längeres Kochen in 4—5%iger HCl löste sie nicht, wohl wurde das Präparat brüchig, jedoch die Färbung mit Jodlösungen schien nicht wesentlich verändert.

In Brillantkongoblau (andere Färbungen wurden nicht versucht) färbten sich die Präparate gut, und die schwammige Modifikation ließ die Struktur unter dem Mikroskop im gefärbten Zustande sehr schön hervortreten.

Aus dem Gesagten gewinnt man den Eindruck, daß die gefällte Zellulose nicht unverändert ist, falls man aus der Färbung mit den genannten Jod-Präparaten

überhaupt Schlüsse ziehen kann, sonst müßte sie sich in JJK. oder auch in Z K R. kaum färben, ebensowenig wie die reine Zellulose in der organisierten Baumwollfaser. (Siehe dazu u. a. Herzog, R.O., Naturw. 1924, Bd. 12, S. 955; Karrer, P. u. Mitarbeiter, Helv. Chim. Acta 1925, Bd. 8, S. 275 und 797, ferner Koll. Ztschr. 1925, Bd. 36, S. 91).

Kupferoxydammoniak: Ein Wort noch über die Reaktionen der Baumwollfaser gegenüber Kupferoxydammoniak. Um die Sachs'sche Reaktion (s. S. 4) zu untersuchen, empfiehlt es sich, das Reagens zu verdünnen, zum Beispiel 1 : 1. Legt man nun die vier Proben hinein, so färben sie sich nicht. – In ihnen unterbleibt die übliche Ringbildung, nur eine Zerfaserung ist vor der Verquellung zu beobachten.

*b) Kartoffelknollen.* Daß das Speichergewebe der Kartoffelknolle Zellulosewandungen hat, die nicht kollodisch reagieren, sagt Pringsheim: „Auch nach E.d.J. und mit saurer Jodlösung erhielt ich bei Rübe und Kartoffel keine Bläuung", ich kann das bestätigen: weder JJK. noch ZKR. färbt die Zellwände des Gewebes blau oder blaugrau, sondern gelblich bis bräunlich. Diese Färbung zeigt andererseits, daß keine reine Zellulose vorliegen kann, was auch durch die Färbbarkeit mit Rutheniumrot bestätigt wird. (Siehe unten.)

Eau de Javelle-Wirkung: Auch nach Einwirkung von E.d.J. auf Schnitte durch die Knolle werden die Membranen weder in JJK. und ZKR., noch in van Wisselinghs Reagens kollodisch, selbst wenn man die Schnitte bis zu 3 Wochen in häufig gewechselter E.d.J. liegen läßt. — ClZnJ. färbt sie nach wie vor schön blauviolett. Wendet man allerdings E.d.J. an, die man mit KOH alkalisch gemacht hat und zwar noch stärker als sie schon ist, oder verwendet man die Merckschе E.d.J. (19 Grad Bé) statt der Arthur Meyerschen, so erhält man in ZKR. kollodische Reaktionen der Wände, nicht aber, oder nur undeutlich, in JJK.

Säuren: Kocht man die Schnitte 1 Stunde lang in 4–5%iger HCl, so neigen sie sehr zum Zerfall. Die Wände verquellen aber kaum im Gegensatz zu kollodischen Wänden, ClZnJ. färbt sie, wie auch ohne Säurebehandlung, aber ZKR. und JJK. färbt sie nun überhaupt nicht mehr, ein Zeichen dafür, daß Stoffe herausgelöst sind („Hemizellulosen"), die vorher die gelbliche bis bräunliche Färbung mit diesen Reagenzien bedingt hatten. Wenden wir statt der schwachen HCl, wie oben bei der Baumwolle, 37%ige HCl bei Raumtemperatur an, so werden die Wände nach einigen

Stunden ganz schwach „kollodisch", d. h. sie färben sich ganz hell blaugrau.

Alkalien: Kocht man Kartoffelschnitte kurze Zeit — zum Beispiel nur 1 Minute — in 10%iger KOH, so färben sie sich darauf in JJK. blaugrau, in ZKR. etwas dunkler, ähnlich wie die Baumwolle, nur daß die Kartoffelzellwände, wie es scheint, schon durch mäßigere Alkaliwirkung angegriffen werden.

Nun war die Frage, ob jene Bläuung, die die Zellwände unter dem Einfluß von KOH oder auch, wie vorhin gesagt, alkalischer E.d.J. annehmen, auf der Veränderung in der Zellulose selbst beruht oder auf Beimengungen, zum Beispiel Hemizellulose o. ä. Um dieses zu entscheiden, wurden Kartoffelschnitte zuerst mit schwacher Säure gekocht, bis sie nicht mehr auf Jodlösungen reagierten, und dann 1 Stunde mit 25%iger KOH behandelt. Sie färben sich nunmehr in ZKR. dunkelblau, in JJK. etwas heller, in beiden aber etwas schmutzig. Ohne die KOH sind sie, wie gesagt, in JJK. und in ZKR. fast oder gänzlich farblos. In ClZnJ. färben sie sich nach KOH-Behandlung rötlich-violett.

Sachssche Reaktion: Nun legen wir einen Schnitt in Schweizers Reagens, um die Zellulose herauszulösen; nach etwa 24 Stunden färbt sich das Zellhautgerüst in ClZnJ. nicht mehr blauviolett; ZKR. oder JJK. färbt die Reste der Membranen gelblich. (Rutheniumrot färbt die Mittellamellen rot.) Es bleibt also nach Entfernung der Zellulose ein Rest, der aber keine kollodischen Reaktionen ergibt. Die Sachssche Reaktion bleibt aus, ob wir nun verdünntes oder unverdünntes Schweizers Reagens anwenden.

Farbstoffe: Legt man Schnitte in neutrale Methylenblaulösungen B.B. und in solche, die mit Spuren von Ammoniak alkalisch oder mit geringen Mengen Essigsäure sauer gemacht worden sind, so speichern aus der sauren Lösung die Wände keinen Farbstoff, wohl aber aus der neutralen und besonders aus der alkalischen, und zwar werden sie metachromatisch angefärbt. Legt man aber mit HCl gereinigte Schnitte in neutrale oder alkalische Methylenblaulösungen, so färbt sich die Wand nicht, nur der Inhalt. Die Färbung durch Methylenblau wird also durch Beimengungen zur Zellulose bedingt.[11]) — (Baumwolle zeigte, auch im nicht gereinigten Zustande, keine derartige Metachromasie in Methylenblau. Das könnte möglicherweise darauf beruhen, daß

[11]) Die Wand der Gefäße und die der Siebteilelemente färben sich in Methylenblau, auch wenn die Schnitte mit HCl vorbehandelt sind.

in der Baumwollfaser vielleicht andere Stoffe der Zellulose beigemischt sind als in den Kartoffelzellwänden.)

Kongorot färbt Kartoffelzellwände, seien sie nun mit HCl extrahiert oder nicht, gleich und zwar rot bis gelblich rot, vielleicht lachsfarben; falls sie mit E.d.J. behandelt werden, verschwindet der gelbliche Ton mehr oder minder.

Brillantkongoblau färbt die Kartoffelzellwände mit einem deutlich violetten Stich (Gegensatz zur Kollose). Dieser Stich ins Violette ist, nebenbei bemerkt, besonders deutlich an den Elementen der Siebteile zu sehen. Extrahiert man die Schnitte mit verdünnter heißer HCl, so färben sich die parenchymatischen Wände in Brillantkongoblau nur mehr blau ohne rötlichen Stich.

Ueber Rutheniumrot-Färbungen ist so viel zu sagen, daß es die Parenchymzellwände und die Mittellamellen rot färbt und zwar etwas gelbrot, während, wie unten gezeigt werden wird, die kollodischen Wände mehr einen karmesinroten Farbton darin annehmen.

Ganz allgemein können wir sagen, daß sich die Kartoffelzellwände in histochemischer Hinsicht wie die der Baumwollfaser verhalten.[12])

*c) Radieschen:* Da hier die histochemischen Reaktionen dieselben oder ganz ähnliche sind, wie sie bei der Kartoffel waren, so erübrigt es sich, auf kleine Differenzen einzugehen. — Nach Behandlung mit E.d.J. zeigt sich in JJK., in ZKR. oder in van Wisselinghs Reagens keine kollodische Färbung des Speicherparenchyms, wohl eine geringe nach Einwirkung von alkalischer E.d.J., ähnlich wie bei der Kartoffel, letzteres jedoch nur nach Behandlung mit ZKR., nicht mit JJK. Die kollodische Reaktion ist in diesem Falle etwas deutlicher in der Epidermis und in dem Parenchym in unmittelbarer Nachbarschaft der Gefäße.

Alkalien: Legt man Schnitte für 1 Stunde in 25%ige KOH, so verändert sie, ganz wie bei der Baumwolle und der Kartoffel, die Zellulose derart, daß sie sich in JJK. blaugrau, in ZKR. dunkelblaugrau färbt. Es scheint, daß beim Radieschen eine etwas energischere vorherige Behandlung mit Alkalien nötig ist, um

[12]) Ein Unterschied liegt darin, daß Behandlung mit Säuren die Rutheniumrot-Reaktion der Baumwollfaser vernichtet, nicht aber, oder doch weniger schnell, die der Kartoffelknolle, bei welcher die Mittellamellen nach Behandlung mit verdünnter HCl zwar angegriffen werden, aber in Rutheniumrot einen schönen roten Farbton zeigen. Der Unterschied zwischen beiden Objekten hängt also damit zusammen, daß in der Baumwollfaser keine Mittellamellen vorliegen.

diese Jodfärbung zu erzielen, als bei der Kartoffel; denn Kochen in 10%iger KOH während 1 Minute genügt noch nicht, um die Zellulose kollodisch zu machen, während bei der Kartoffel dieser Erfolg schon eintritt. In ClZnJ. färben sie sich nach KOH-Behandlung rötlich-violett.

Säuren: Radieschenschnitte, in 4%iger HCl während 1 Stunde gekocht, bleiben in JJK. oder ZKR. farblos oder fast farblos. Behandelt man sie aber nach der Säure noch mit 25%iger KOH bei Raumtemperatur während ½ Stunde, so färben sie sich in JJK. schmutzig blau, in ZKR. ähnlich, aber dunkler.

*d) Möhren:* Auch die Wurzel von Daucus carota gibt in ihrem Grundparenchym ein gutes Beispiel für Zelluloselamellen ab. Weder in JJK. noch in ZKR. reagiert es kollodisch, gleichgültig, ob ein E.d.J.-Bad vorhergeht oder nicht. Nur auf dem Phloem liegt ein graublauer Schein, wenn die Schnitte in eines der genannten Jod-Präparate eingelegt werden.

Versuche mit Farbstoffen wurden weder am Radieschen noch an der Möhre angestellt.

### 2. *Die Histochemie der kollodischen Zellwände.*

*a) Blumenkohl:* Pringsheim nennt das Gewebe der Blumenkohlstrünke kollodisch, und in der Tat ist es ein leichtes, die Richtigkeit dieser Behauptung nachzuweisen. Ohne E.d.J.-Behandlung wird in JJK., außer den Siebteilen, die schmutzig blau erscheinen, kaum etwas gebläut. ZKR. färbt das Parenchym schmutzig, in einem Ton, der etwas an den Hopmannton erinnert, die Siebteilwände erscheinen deutlicher blaugrau. Behandelt man aber die Schnitte etwa ¼ Stunde lang mit E.d.J., so färbt sich nunmehr auch das Grundgewebe in JJK. hellblau, während ZKR. ihm einen deutlichen Hopmannton verleiht.

*b) Fruchtfleisch des Apfels:* Genauer als die Zellwände der Blumenkohlstrünke wurden andere kollodische Zellmembranen analysiert. Auf der Suche nach solchen stieß ich auf das Fruchtfleisch des Apfels, welches sehr schön kollodisch reagierende Zellwände besitzt. Aehnlich wie verschiedene Tafeläpfel verhielten sich Birnen und Quitten, ferner die Früchte von Malus Halliana, Pirus baccata, auch das Fleisch der Beere von Symphoricarpus oder der Frucht von Diospyros lotus.

Angaben über die kollodische Natur des Fruchtfleisches habe ich in der Literatur nicht gefunden. Die genannten Objekte wurden im reifen oder fast reifen Zustande untersucht.

Legt man Schnitte ohne weitere Behandlung in JJK., so färben sie sich im allgemeinen nicht sauber, vielmehr unbestimmt blaugrau mit gelbbraunem Nebenton, in Z.K.R. ähnlich aber intensiver graublau.

Eau de Javelle: Behandelt man sie aber vorher ¼ Stunde in E.d.J., so werden sie nunmehr in JJK. satt blau bis blaugrau, in van Wisselinghs Reagens, in welchem sie sich ohne vorherige E.d.J.-Behandlung garnicht färben, nach wenigen Minuten hellblau, in Z.K.R. nehmen sie dann einen schönen dunkelstahlblauen, blaugrauen Hopmannton an. Wir untersuchen die Wirkung von E.d.J. bei längerer Einwirkungsdauer und finden, daß nach einigen Tagen im Gegensatz zur Zellulose die Kollose zerstört ist, denn Z.K.R. ergibt keinen Hopmannton mehr. Die Zellulose (ClnZJ.-Färbung) und das Pektin (Ruthenrumrot-Färbung) sind dann noch erhalten.

Säuren: Fragen wir nun nach der Resistenz kollodischer Lamellen gegen Säuren, so zeigt sich, daß sie in Säuren viel stärker verquellen als Zelluloselamellen. Kocht man Schnitte durch das Apfelgewebe längere Zeit in 4—5%iger HCl, so zerfallen sie vollkommen in die einzelnen Zellen, einige Zellen haften nach wie vor an der Schale und zeigen, falls genügend lange mit Säure behandelt, keine kollodischen Eigenschaften mehr. ClZnJ. und Rutheniumrot wirken dann noch positiv, ein Zeichen, daß Zellulose und „Pektinkörper" gegen Säurebehandlung widerstandsfähiger sind als die Substanz oder die Substanzen, die die kollodische Färbung bedingen. In 5%iger $H_2SO_4$ dauert es immerhin auf dem Wasserbade ca. 12 Stunden, bis die Kollose-Reaktion der Apfelschnitte ganz verschwunden ist.

Alkalien: Einstündiger Aufenthalt in 25%iger KOH bei gewöhnlicher Temperatur scheint nichts an den kollodischen Eigenschaften des Apfelgewebes zu ändern.

Kupferoxydammoniak: Wir legen nun Schnitte durch die Apfelfrucht, um die Zellulose zu entfernen, für längere Zeit in Kupferoxydammoniak. Sie zerfallen dann äußerst leicht. (Die Zellen der Kartoffel haften nach Kupferoxydammoniakbehandlung viel fester aneinander). Sie färben sich nun nicht mehr mit

ClZnJ., reagieren aber positiv mit Z.K.R. auf Kollose, außerdem färben sie sich mit Rutheniumrot.

Legen wir nun noch Schnitte durch eine der genannten Früchte in verdünntes Kupferoxydammoniak, um sie sofort zu beobachten, so finden wir, daß sie sich recht deutlich blau färben, allerdings nicht so intensiv blau wie die Wände einiger weiter unten zu besprechender Kollenchyme. Kollodische Membranen zeigen also die positive Sachssche Reaktion mehr oder minder ausgesprochen. Bemerkenswert ist, daß sich das engmaschige kollenchymatische Gewebe dicht unter der Epidermis mit Kupferoxydammoniak deutlicher blau färbt als das schwammige Fruchtfleisch, und daß umgekehrt jenes subepidermale Gewebe in Jodlösungen zwar die Kollose-Reaktion gibt, aber doch weniger deutlich als das lockere Fruchtfleisch des Inneren. Wurde dieses, wie oben erwähnt, nach kurzer E.d.J.-Behandlung mit dem jodarmen van Wisselinghschen Reagens blau, so empfiehlt es sich, zur Bläuung der subepidermalen Zellen stärkere Jodlösungen zu verwenden. Es scheint also, daß es sich hier um zwei etwas verschiedene Modifikationen kollodischer Zellwände handelt.

Chloraljod: Nebenher wurde auch die Wirkung von Chloraljod auf kollodische Lamellen untersucht. (s. dazu Ziegenspeck 1925, S. 310). Wendet man Chloraljod nach A. Meyer an (Chloralhydrat 5, Wasser 2, Jod im Ueberschuß), so wird man keine Färbung kollodischer Lamellen damit erzielen; wendet man aber das andere oben genannte Gemisch (vgl. S. 9) an, so führt dieses alsbald eine leicht blaue Färbung kollodischer Membranen herbei.

Siedendes Wasser: Ueber die Widerstandsfähigkeit der Kollose gegen siedendes Wasser machte ich nur einige orientierende Versuche, die ergaben, daß Schnitte durch das Gewebe des Apfels nach einem ca. 48-stündigen Kochen noch kollodische Wände (JJK. oder Z.R.K.) besaßen. In ClZnJ-Lösung trat noch deutliche Blauviolettfärbung ein, bei Einwirkung von Rutheniumrot Rotfärbung der gekochten Schnitte.

Farbstoffe: Auch mit Apfelschnitten wurden einige vorläufige Färbungsversuche angestellt. Unbehandelte Schnitte färbten sich in schwach sauren Methylenblaulösungen B.B., welche die Kartoffelwände kaum färben, schön himmelblau, in neutraler Lösung ebenfalls schön blau, ähnlich wie die der Kartoffel,

aber ohne oder fast ohne Metachromasie. In alkalischer Lösung färbten sich beim Apfel die Wände zwar etwas metachromatisch, aber ganz entschieden weniger stark als die der Kartoffel.

Färbt man nicht weiter behandelte Schnitte durch den Apfel mit Kongorot, so färben sich die Wände etwa karmesinrot (die der Kartoffel mehr gelblich-rot). Auch bei Färbungsversuchen mit Neutralrot zeigt sich, daß unbehandelte Apfelschnitte mehr blaurot, solche der Kartoffel mehr gelbrot werden.

Brillantkongoblau färbt die Wände des Apfelparenchyms sattblau, das Kollenchym unter der Epidermis heller, da die Mittellamellen ungefärbt bleiben, die Kutikula hellgelb, die Kutikularschichten gelbviolett.

### *3. Die Histochemie der amyloidischen Zellhäute.*

Wir beschränken uns unter Hinweis auf Ziegenspeck und Hopmann auf den Siebteil und Perizykel von Lycopodium clavatum.

Zunächst sei daran erinnert, daß diese amyloidischen Lamellen mit ClZnJ. und Ruthenrumrot positiv reagieren (s. Hopmann S. 15 und 23) und sich mit JJK. oder auch mit van Wisselinghs Reagens färben lassen. Es war nun zu untersuchen, wie sich das Amyloid bei Anwendung von Z.K.R. verhält. Schnitte, die in JJK. die üblichen Bilder — Siebteile, zumal Siebröhren dunkelblau, Perizykel hellblau, Rinde gelb — und die in ClZnJ. violette Färbung des Siebteils, des Perizykels und der Rinde geben, zeigten in Z.K.R. dunkelblaugraue Färbung des Siebteils; der Perizykel war etwas heller graublau bis stahlblau. In Wasser übertragen, wird die graublaue Färbung mehr himmelblau, um bald ganz zu verblassen.

Also geben auch Wände, die im Sinne Ziegenspecks Amyloid führen, sehr schöne Hopmannfärbungen mit Z.K.R. Die Sachssche Reaktion, die eventuell mit stark verdünntem Kupferoxydammoniak ausgeführt werden kann, fällt positiv aus.

Im übrigen kann ganz im Einklang mit Hopmann mittels Kupferoxydammoniaks bei hinreichend langer Einwirkungsdauer die Zellulose aus den Amyloidwänden extrahiert werden; sie färben sich nun mit ClZnJ. nicht mehr, wohl aber mit JJK., während Z.K.R. weniger günstig wirkt.

Eau de Javelle: Hinreichend lange Behandlung mit E.d.J. löst, wie Ziegenspeck und Hopmann gleichfalls finden, das Amyloid heraus; ob es sich auf diese Weise in kürzerer Zeit entfernen läßt als die Kollose aus kollodischen Lamellen, müßte noch genauer untersucht werden. Jedenfalls bleibt dann ein mit ClZnJ. wie Zellulose reagierender Rest zurück.

Säuren: Gegen Säuren ist das Amyloid zweifellos viel empfindlicher als die Kollose. Ich habe darüber einige genauere Versuche angestellt und finde: eine Behandlung mit 37%iger HCl löst bei Raumtemperatur aus mitteldicken Schnitten in einer Stunde alles Amyloid heraus.[13]) Kocht man solche Schnitte in 4—5%iger HCl 20 Minuten lang, so ist alles Amyloid verschwunden, der Rest färbt sich mit ClZnJ. blauviolett. Schon Ziegenspeck (1925, S. 323) hatte angegeben, daß das Amyloid durch Säuren viel leichter hydrolysiert wird als die Kollose. Auch Pringsheim sagt, daß die Kollose durch „Widerstandsfähigkeit gegen Säuren" gekennzeichnet sei.

Alkalien: In Querschnitten durch Lycopodium clavatum, die ½ Stunde in 25%iger KOH bei Raumtemperatur eingelegt werden, zeigen sich nachher ihre Siebteile, zumal die Siebröhren, in JJK., ähnlich wie ohne KOH-Behandlung, dunkelblau, die Rinde (Mittelrinde) ist in JJK. schmutzig violett, in Z.K.R. erscheinen die Siebteile, ebenso oder ähnlich wie in JJK. die mittlere Rinde, dunkelviolett-braun. — Ohne KOH-Behandlung sieht das Amyloid der Siebteile in JJK. und Z.K.R. ziemlich gleich dunkelblau aus, die Rinde in JJK. schmutzig violett, in Z.K.R. ähnlich, aber dunkler. Das Sklerenchym wird in JJK. gelbbraun, in Z.K.R. rotbraun. In ClZnJ. färbt sich nach KOH-Behandlung die Rinde violett, das Amyloid etwas mehr blauviolett.

Farbstoffe: Um zu untersuchen, wie sich die amyloidischen Wände gegen Methylenblau verhalten, wurden Lycopodiumschnitte nach kurzer Behandlung mit Alkohol in eine Lösung von Methylenblau gelegt. Nach einiger Zeit, innerhalb welcher Schnitte durch das Apfelfruchtfleisch sich deutlich blau gefärbt hatten, waren Siebteil und Perizykel noch nicht angefärbt, während Sklerenchymfasern und Rinde blau und die Gefäße dunkelblau wurden.

---

[13]) Gegen kalte, verdünnte Säuren (5 %ige $H_2SO_4$) war in meinen Versuchen das Amyloid resistenter als bei Hopmann angegeben. (S. 20).

Rutheniumrot färbt, wie Hopmann fand, das Amyloid, allerdings nicht auffallend stark.

Kongorot färbt die Siebteile von Lycopodium ziemlich stark rot, die Rinde heller mit etwas gelblichem Ton.

Eine der oben behandelten Fragen, die noch am dringendsten der Aufklärung bedarf: Wie hat man sich die Wirkung der E. d. J. vorzustellen? wird auf histochemischem Wege nicht erschöpfend beantwortet werden können. Immerhin war der Versuch geboten, ob man durch Färbungen mit substantiven Farbstoffen nachweisen kann, ob E. d. J. vielleicht das Gefüge lockert, was dann der Fall sein würde, wenn es sich zeigen ließe, daß mit E. d. J. behandelte Schnitte den Farbstoff in Form größerer Teilchen in sich aufnehmen, als es ohne E. d. J.-Behandlung der Fall ist. Es wurden darum Schnitte durch die Kartoffel (Zellulose), den Apfel (Kollose) und Lycopodiumstengel (Amyloid) teilweise ohne Vorbehandlung — abgesehen von kurzer Alkoholwirkung — teilweise nach Behandlung mit E.d.J. (1 Stunde lang) in Brillantkongoblau gelegt und auf etwaige Differenzen in der Färbung geachtet.

Kartoffel: Der mit E. d. J. behandelte Schnitt war sicher mehr rein blau gefärbt, als der nicht behandelte, welcher einen deutlich violetten Ton aufwies.

Apfel: Aehnliches gilt für den Apfelschnitt, obwohl hier der Unterschied weniger deutlich war; der mit E.d.J. behandelte Schnitt zeigte jedoch einen reineren blauen Ton als der andere.

Lycopodium: Brillantkongoblau färbte das Lycopodiumamyloid blau aber etwas rötlich (Indigo), die Rinde heller, die Gefäße blieben fast farblos, ebenso das Sklerenchym. Behandelt man die Schnitte vorher einige Zeit mit E. d. J., so färbt sich das Amyloid mehr rein blau.

Wir dürfen, gestützt auf die Ausführungen Franks (1924) und Czajas (1930), wohl sagen, daß diese Befunde, die natürlich noch stark der Ergänzung durch weitere Versuche bedürfen, darauf hindeuten, daß E. d. J. das Gefüge der Zellwände lockert, sei es, daß Intermizellarsubstanzen herausgelöst werden, sei es auf irgend eine andere unbekannte Weise, vielleicht auch durch Lockerung des Mizellargefüges selbst.

In ähnlicher Weise wurde untersucht, ob Extraktion mit verdünnter Säure (4%ige HCl in der Hitze, 1 Stunde lang) das Verhalten der Schnitte gegen Brillantkongoblau verändert.

Unbehandelt in Brillantkongoblau gelegt, zeigen sich, wie schon oben gesagt, die Kartoffelzellwände rötlich-violett (Stärkekörner bleiben farblos), die Apfelzellwände unbehandelt aber schon ziemlich rein ultramarinblau. Das in Salzsäure gekochte Material war bei beiden Objekten ziemlich gleich blau gefärbt. Also auch hier war die Farbenveränderung bei der Kartoffel entschieden deutlicher als beim Apfel.

Dieselben Versuche wurden nun mit Lycopodiumstengeln ausgeführt. Siebteil und Perizykel werden schön rein blau, die Rinde ebenfalls aber mit violettem Ton, die Gefäße und das Sklerenchym rötlich, falls man 1 Stunde in 4 %iger HCl kocht, um dann zu färben. Also auch dieses deutet hin auf eine Lockerung der Gefüge durch die Säuren.

### *4. Zusammenfassung von Teil I.*

Als Beispiele für amyloidische Zellwände wurden die des Siebteils von Lycopodium clavatum, für kollodische die des Fruchtfleisches des Apfels, für Zellulosela-mellen die der Baumwollfaser, der Kartoffelknolle und des Radieschens gewählt.

In allen drei Modifikationen läßt sich eine Zellulosegrundlage, löslich in Schweizers Reagens, ferner Pektinkörper mit Rutheniumrot nachweisen.

In amyloidischen Wänden (S. 20) ist außerdem ein Stoff oder sind Stoffe vorhanden, die sich ohne vorherige Eau de Javelle-Behandlung mit Jodjodkalium-Lösung oder auch mit Ziegenspecks Kollose-Reagens blau färben lassen. — Behandlung mit 25%iger Kalilauge bei Zimmertemperatur ändert die Reaktion der amyloidischen Lamellen gegen Jod nicht. — Amyloidische Wände lassen sich mit Kupferoxydammoniak blau färben.

In den kollodischen Lamellen (S. 17) haben wir außer Pektinkörpern und der Zellulosegrundlage jene Substanz oder Substanzen, welche sich nach kurzer Behandlung mit Javellescher Lauge durch Jodjodkalium-Lösung blau bis blaugrau (Hopmannton), eventuell mit violettem Stich färben lassen. Vielfach ergibt Färbung mit sauren Jodlösungen (Ziegenspecks Kollose-Reagens) deren Säuregehalt (10 % $H_2SO_4$, 25 % HCl) aber zur Bläuung typischer Zellulose[14]) nicht ausreicht, noch bessere Ergebnisse. Wie seit de Bary bekannt, reagieren kollodische Membranen (Kollenchymzellwände) nach geeigneter Behandlung mit Alkalien blau. — Kupferoxydammoniak färbt sie blau (Sachssche Reaktion ist positiv).

Zellulosewände (S. 10), die, wie der mikroskopische Anblick zeigt, gegen Quellungsmittel viel widerstandsfähiger sind als kollodische Lamellen, führen außer der Pektinkomponente und der Zellulose noch andere, wahrscheinlich in den verschiedenen Fällen verschiedene Stoffe: Hemizellulosen o. ä., die sich mit verdünnter Säure herauslösen lassen. Kollodische Reaktion ist auch nach Herauslösung der Zellulose oder der Pektinkörper nicht zu erkennen. Um durch Kalilauge Zelluloselamellen in einen Zustand zu überführen, in dem sie sich mit Jodlösungen bläuen, bedarf es einer kräftigeren Einwirkung von KOH als bei kollodischen Lamellen. Zelluloselamellen zeigen die Sachssche Reaktion nicht.

In schwach sauren Methylenblaulösungen färben sich die Kartoffelzellwände kaum, Apfelparenchymzellwände himmelblau.

---

[14]) van Wisselingh (Hdb. der Pflanzenanatomie, S. 35) empfiehlt zur Blaufärbung der Zellulose durch Jod vorherige Behandlung mit $66^1/_2$%iger $H_2SO_4$).

Kongorot oder auch Neutralrot färbt Kartoffelzellwände gelblich rot, kollodische Wände aber mehr karmesinrot.

Untersuchungen über den Farbton der Zellwände in Lösungen von Brillantkongoblau mit oder ohne vorherige Behandlung mit E.d.J. lassen erkennen, daß die Behandlung mit E.d.J. eine „Lockerung ihres Gefüges" bedingt.

---

Was wir eben ausgeführt haben, gilt in erster Linie nur für diejenigen Beispiele von Zellinwänden, die wir oben näher besprochen haben. Wie sich andere Wände in histochemischer Hinsicht verhalten, muß in jedem Einzelfall geprüft werden. (vgl. Teil II). Im Anschluß an die bisherigen Ergebnisse müssen besonders noch drei Punkte geklärt werden: 1. Durch den Vergleich jüngerer und älterer Entwicklungszustände von Früchten, müßte die Frage entschieden werden können, in welchen Fällen der kollodische Zustand wirklich, wie Ziegenspeck annimmt, auf einen amyloidischen folgt, um seinerseits einem dritten zu weichen, bei welchem wir von Zelluloselamellen sprechen dürfen. Ich komme auf diese Fragen noch zurück.[15]) 2. Mit Hilfe chemischer Methoden muß es möglich sein, die genannten drei Modifikationen von Zellwänden stofflich genau zu charakterisieren. 3. Unter Anwendung der Ursprungschen Methoden wird es möglich sein, die physikalischen Eigenarten (elastische Dehnbarkeit, Plastizität, usw.) kollodischer Lamellen mit denen der Zellulosewände genauer zu vergleichen. Einen bemerkenswerten Anfang dazu hat schon Pringsheim gemacht.[16])

## TEIL II.

## Histochemische Reaktionen kollodischer Zellmembranen unter besonderer Berücksichtigung verschiedener Kollenchyme.

Wir besprechen nunmehr einige weitere Beispiele für kollodische Zellwände, wobei unter anderem auch besonders die Frage zu berücksichtigen ist, ob ältere und jüngere Kollenchyme verschieden reagieren.

*a) Ricinus communis:* Hier liegt ein besonders schön und instruktiv reagierendes Kollenchym vor, das für Nachuntersuchungen besonders empfohlen sei. Ziegenspeck (1925) nennt in seiner Tabelle 3 auf S. 371 neben sehr vielen anderen Pflanzen auch Ricinus als Beispiel für ein „Kollenchym mit Amyloid". Ich machte Querschnitte durch vier verschiedene Internodien des Seitenzweiges einer kräftigen Freilandpflanze. Das älteste dieser Internodien war 8 cm, das zweitälteste 1 cm, das dritt-

---

[15]) Ein vorläufiger Versuch zeigte mir, daß das Fruchtfleisch älterer und jüngerer Früchte der Schneebeere auf Jodlsöung im mikroskopischen Bilde gleich oder doch annähernd gleich reagiert. Ein Blick auf die recht umfangreiche chemische Literatur, die von den Wandsubstanzen (Pektinen) des Apfelfleisches handelt und von deren Veränderungen während der Reife, zeigt zur Genüge, daß auch in histochemischer Beziehung ein Vergleich der verschiedenen Entwicklungsstadien von größter Bedeutung sein würde. (Siehe Archbold, 1925 — Carré, 1925, 1927 — Murneek, 1229).

[16]) Nachträgl. Anm.: S. dazu die Tabelle bei Märkert, S. 533.

älteste 5 mm und das jüngste 2,5 mm lang. Die Schnitte wurden durch die oberen Teile der Internodien geführt. Ohne Behandlung mit E.d.J. wurde das Kollenchym dieser Internodien in Z.K.R. schwach, aber immerhin deutlich kollodisch, in JJK. nur schwach hellblau, kaum sichtbar gefärbt, van Wisselinghs Reagens färbte nicht. Leichte Abwandlung des Z.K.R. ergab wenig Bemerkenswertes: Wurde der Säuregehalt herabgesetzt und der JJK.-Gehalt gelassen, wie er war, so färbten sich die Kollenchymwände etwas dunkler; andererseits ergab Senkung des JJK.-Gehaltes bei gleichbleibender Säuremenge mehr blaugraue Töne. Auch im jüngsten der oben genannten Internodien reagierte das Kollenchym ohne vorherige E.d.J.-Behandlung mit einem unverkennbaren Hopmannton, doch war dieser bestimmt nicht stärker, eher wohl weniger deutlich als im ältesten Internodium. Auf einen größeren Gehalt an Amyloid in jüngeren Kollenchymen konnte jedenfalls daraus nicht geschlossen werden. van Wisselinghs Reagens färbte auch dieses junge Kollenchym ohne vorherige E.d.J.-Behandlung nicht.

Nach kurzer Behandlung mit E.d.J. ergab sich überall ziemlich gleichmäßig in den älteren wie in den jüngeren Internodien eine schwache Blaufärbung mit van Wisselinghs Reagens, eine schön himmelblaue mit JJK., mit Z.K.R. ein mehr blaugrauer Ton. Also konnte auch nach E.d.J.-Behandlung zwischen älteren und jüngeren Internodien in der Reaktion mit Jodlösungen kein Unterschied mit Sicherheit erkannt werden, höchstens reagierten die älteren eher deutlicher.

Legt man Querschnitte in Schweizers Reagens, um sie gleich zu beobachten, so zeigt sich das Kollenchym sehr schön blau gefärbt, vielleicht das der jüngeren Internodien etwas weniger deutlich blau als das des ältesten Internodiums einer 1½ m hohen Pflanze.

Auf das Mark wurde bei Ricinus weniger geachtet; es färbte sich nicht deutlich kollodisch.

Wurde ein etwa 6 cm langes Hypokotyl eines Keimlings oben und unten quer durchschnitten, zehn Minuten in E.d.J. gelegt und dann in JJK. untersucht, so färbte sich nur das Kollenchym des oberen Schnittes deutlich blau.

Sodann wurde auch ein ungekeimter Samen untersucht. Die Schnitte wurden in Alkohol entfettet, kurz mit E.d.J. behandelt und in Z.K.R. eingelegt. Die Zellwände des Endosperms waren

einwandfrei kollodisch.[17]) Auch die Zellen der Kotyledonen und des Hypokotyls zeigten nach gleicher Behandlung eine dem Hopmannton ähnliche Färbung, reagierten also kollodisch.[18]) Schön blau färbten sich in Z.K.R. oder auch in JJK. die Gefäßwandungen im Hypokotyl oder Kotyledo, desgleichen im letzteren die jungen Sklerenchymfasern; das ist einer jener auch sonst beschriebenen Fälle (s. Anderson), daß später verholzende Lamellen vorher nicht wie Zellulose, sondern kollodisch reagieren. (Lit. bei Hopmann). Sind nach erfolgter Keimung die Kotyledonen entfaltet, so reagiert ihr Mesophyll nicht mehr deutlich kollodisch, wohl aber das Nervenparenchym und Kollenchym, Siebteil und Epidermis.

Ich habe mir bei Ricinus auch die von Ziegenspeck im Kollenchym beobachteten „Amyloidzwickel" angesehen. (vergl. Ziegenspeck. 1925, S. 312 und 333, sowie Tafel 10). Ich fand sie z. B. in dem Kollenchym der Blattstiele und dem des Hypokotyls und zwar in dessen Streckungszone. Doch zeigten sie sich in meinem Material immer nur unregelmäßig, ja sporadisch: bestimmte Gesetzmäßigkeiten ihres Vorkommens konnte ich nicht nachweisen. Ziegenspeck vertritt die interessante These, daß es sich um Zwickelfüllungen handle, indem Substanz aus dem Zellinnern (vielleicht auch Bestandteile der Intermizellarsubstanz?) in die Interzellularen ergossen würde, um unter Durchlaufung eines amyloidischen, dann kollodischen Zustandes dort weiter kondensiert zu werden. Eine Verfestigung des Gewebes sei die Folge. Solch ein Erguß von Stoffen durch die Wand in die Interzellularen ist unter anderem auch schon von A. Meyer für bestimmte Fälle diskutiert worden. (s. Bot. Prakt., 1915, S. 38). Ob es sich aber bei den Ziegenspeckschen Zwickeln wirklich um solche Zwickelfüllungen handelt oder um amyloidische Verquellungserscheinungen von zunächst soliden Zwickeln, die da-

---

[17]) Einige Angaben über die Histochemie von Endospermwänden bringt van Wisselingh (1898 S. 631).

[18]) Die Keimblätter der Mandeln sind ein beliebtes Objekt des Zoologen, um die Verdaulichkeit der pflanzlichen Zellwände durch den Magensaft der Schnecken nachzuweisen (s. Stempell, W. und Koch, A., Elemente der Tierphysiologie, 2. Auflage 1923, S. 188). Es schien daher angezeigt, auch auf diese Wände einen kurzen Blick zu werfen. Sie erwiesen sich nach der üblichen Behandlung mit E.d.J. und JJK. oder ZKR. als schön kollodisch.

Die Kotyledonen der Haselnuß, die sich ohne vorherige E. d. J.-Behandlung in JJK. gelblich, in ZKR. gelblich bis kaum blaugrau färben, werden nach 1/2 stündiger E.d.J.-Behandlung in JJK. blau, in ZKR. blaugrau, reagieren also auch kollodisch.

durch schließlich hohl werden, wage ich nicht zu entscheiden. Der Fall muß näher untersucht werden. (s. unten bei Hoya, S. 35) Ziegenspeck ist der Meinung, daß vielleicht Buscalioni solche Amyloidzwickel bei manchen Pflanzen gesehen und sie als abgekapselte Stärkekörner beschrieben habe. Betrachtet man aber die Abbildungen Buscalionis, so gewinnt man den bestimmten Eindruck, daß dieser Forscher wirklich abgekapselte Stärkekörner vor Augen hatte und sie auch ganz richtig beschrieben hat.

*b) Cucurbitaceen:* Untersucht wurden Stengelquerschnitte von Trichosanthes Cucumeroides, Sikyos angulatus und Cucurbita Pepo, die letztgenannte Pflanze als Alkoholmaterial. Im allgemeinen wird ohne vorherige E.d.J.-Behandlung das Kollenchym weder in JJK. noch in van Wisselinghs Reagens kollodisch gefärbt, in Z.K.R. färbt es sich grau, vielleicht mit etwas blauem Ton. Badet man aber die Schnitte vorher einige Minuten oder ½ Stunde in E.d.J., so wird das Kollenchym in JJK. blau bis blaugrau, in Z.K.R. etwas dunkler. van Wisselinghs Reagens färbt aber auch nach E.d.J.-Behandlung nicht, hier liegt also ein Unterschied dieses Kollenchyms gegenüber dem des Ricinus vor. Kurze vorhergehende Behandlung mit Säuren, etwa 30%iger HCl bei Zimmertemperatur, schädigt die Kollosereaktion nicht, macht sie sogar noch deutlicher. Kocht man aber die Schnitte 1 Stunde in 4%iger HCl, wobei sie stark zerkocht werden, so ist die Kollosereaktion nunmehr verschwunden. Sichere Anzeichen dafür, daß junges Kollenchym sich gegen Jod-Reagenzien anders verhält wie älteres, konnte ich nicht finden.[19])

Legt man Kürbisschnitte in Kupferoxydammoniak, so wird darin das Kollenchym sofort schön tingiert, ähnlich der Siebteil und das Kambium. 20stündige Vorbehandlung mit E.d.J. ändert daran nichts; nach mehrtägiger Behandlung wird die Sachssche Reaktion eher undeutlich und schwindet mehr und mehr.

In Rutheniumrot färben sich alle Wände des Kürbis schön rot, ebenfalls die Mittellamellen in mit HCl extrahierten Schnitten. Auf dem Querschnitt betrachtet, ragen die rot gefärbten

[19]) Beim Kürbis wurde auch auf die Färbung des Siebteils und des Kambiums durch Jodlösungen nach vorherigem E. d. J.-Bad geachtet. Im Gegensatz zum Grundparenchym, das nicht kollodisch reagierte, färbten sich Siebteil und Kambium ähnlich wie das Kollenchym; besonders deutlich reagierte der Siebteil, viel weniger stark das Kambium.

Mittellamellen wie kleine Knöpfchen in die Interzellularen hinein, auf dem Längsschnitt sehen sie aus, wie schmale Leisten.

Einige vorläufige Färbungsversuche mit Brillantkongoblau (0,1 %) ergaben, daß das Kollenchym und das parenchymatische Grundgewebe sich blauviolett färben. Aehnlich die Epidermis, doch bleibt deren Außenwand fast farblos. Kambium und Siebteile sind dem Grundparenchym ähnlich gefärbt; Tracheen bleiben farblos; Sklerenchym erscheint rötlich, Mittellamellen desselben rot. Das Leitparenchym ist etwas deutlicher violett als das Grundgewebe. Das besagt also (Czaja, 1930), daß die Wände des Kollenchyms, Parenchyms, Kambiums und der Siebteile etwa gleich dicht gefügt sind, etwas dichter die Leitparenchymwände und die Sklerenchymlamellen, noch dichter die Tracheenwände und die Epidermisaußenwände. — Behandelt man Schnitte mit E. d. J., so verschieben sich alle Farbtöne nach Blau hin, wenn sie vorher violett waren, nach Rot, wenn sie vorher violett bezw. fast farblos oder gelblich waren. — Da auch beim makroskopischen Anblick Schnitte, die vorher in E. d. J. gebadet waren, nach Färbung in Brillantkongoblau mehr bläulich, solche, die nicht mit E. d. J. behandelt waren, mehr rötlich aussehen, dürften auch die Zellwände der Gewebe des Kürbis durch die E. d. J.-Behandlung „gelockert" werden.

*c) Labiaten:* Wir untersuchen zunächst Lamium Orvala, Freilandpflanzen, die kurz vor der Blüte stehen. Macht man Querschnitte durch ältere oder auch jüngere Internodien, in denen sich alle Gewebe bis auf die verholzten mit ClZnJ. blau färben, so zeigen Jod-Reagenzien wohl nirgends deutliche Amyloidie oder kollodische Färbung. Badet man aber z. B. ¾ Stunde lang in E.d.J., so werden nunmehr in JJK. das Kollenchym, der Siebteil und das Kambium, auch die kleinen parenchymatischen Zellen dicht innerhalb des Xylems blau, nicht aber das Mark, das somit nicht kollodisch reagiert, sondern nach unserer Terminologie Zelluloselamellen besitzt.

Rutheniumrot färbt in Rinde und Mark die Mittellamellen gleich stark rot, im Kollenchym die Mittellamellen stärker als die Verdickungsleisten. Sehr auffallend ist auch hier die Erscheinung, daß die roten Mittellamellen im Querschnittsbild mit kleinen Knöpfchen in die Interzellularräume, wie bei Cucurbita, vorspringen. Wo massive Zwickel vorkommen, werden diese durch Rutheniumrot gefärbt.

Kupferoxydammoniak färbt alles Kollodische blau, das Mark wird nicht gefärbt. In der Endodermis treten die Caspary-schen Punkte sehr deutlich blau hervor. Manchmal hatte ich den Eindruck, als ob in jüngeren Internodien auch die Innenrinde und das Mark eine Spur kollodischen Charakters hätte, der dann später in älteren Stadien verschwand. Sicheres konnte ich aber nicht ermitteln.

Lamium album zeigt im wesentlichen gleiche Bilder. Behandelt man Schnitte während dreier Tage mit Kupferoxydam-

moniak, so färbt sich nunmehr außer den verholzt gewesenen Elementen mit ClZnJ. nichts mehr blau, mit JJK. bläut sich das Kollenchym und die Epidermis, nicht das Kambium, und zwar deutlicher als vor der Entfernung der Zellulose. Nicht blau färben sich in JJK. Mark und Innenrinde, deren Zellwände nach Kupferoxydammoniak-Behandlung wie zerknittert aussehen.[20])

Origanum vulgare: Hier war auffallend, daß sich schon ohne E.d.J.-Behandlung die Epidermis und das Kollenchym, sowie die darunterliegenden Rindenzellen mit JJK. deutlich schmutzig blauviolett färbten, also eventuell zur Amyloidie neigten; nur schwache Färbung zeigte der Siebteil, nicht das Mark. Längere Behandlung mit 5%iger Schwefelsäure macht die Blaufärbung des Kollenchyms durch JJK. noch deutlicher. Dreitägige Behandlung mit Kupferoxydammoniak bewirkt, daß sich das Kollenchym mit ClZnJ. nicht mehr färbt, wohl aber mit JJK. deutlich kollodisch reagiert, dasselbe gilt für das Parenchym zwischen den Gefäßstrahlen. Die verholzt gewesenen Elemente färben sich nach Behandlung mit Kupferoxydammoniak in ClZnJ. schmutzig blau.

Salvia officinalis: Behandelt man Querschnitte kurze Zeit mit E.d.J., so reagieren Kollenchym und darunterliegende Rinde deutlich kollodisch nicht aber das Mark, obwohl es im Alter verholzt. Eine genauere Untersuchung, ob hier wirklich der Fall vorliegt, daß Zelluloselamellen, also nichtkollodische Lamellen, später verholzen, steht noch aus. Bekanntlich liegt ja in der biochemischen Literatur eine Anzahl von Angaben vor (z. B. van Wisselingh, Hopmann, Anderson, Künemund), daß typische Zellulose nicht verholzt. Bei Salvia ist, nebenbei gesagt, auch schön zu sehen, daß, falls man durch E.d.J.-Behandlung die Phloruglucin-Reaktion der verholzten Lamellen zum Verschwinden gebracht hat, diese doch noch mit JJK. oder Z.K.R. gelb bis dunkelgelb reagieren.[21])

*d) Helianthus annuus:* Wir wenden uns einem weiteren Objekte zu, bei dem wir Kollose- und Zelluloselamellen an ein und demselben Schnitte studieren können, und wählen: Querschnitte durch die Internodien der Sonnenblume.[22]) Wir unter-

---

[20]) Bei Lamium wurde auch festgestellt, daß Behandlung mit konzentrierter $NH_3$ nichts an den Reaktionen der Wände ändert.

[21]) Vergleiche Frank Schwarz, l. c. p. 35.

[22]) Pringsheim studierte Hypokotyle von Helianthus (1931, Tabelle S. 785). Die Außenrinde ergab mit ClZnJ oder Jod+Schwefelsäure Zellulose-

suchen zunächst ausgewachsene Internodien einer stattlichen zwei Meter hohen Pflanze. In ClZnJ. färben sich die mittleren Markzellen, der Siebteil, die Rinde einschließlich Kollenchym und die Epidermis blauviolett, alles Verholzte, d. h. Gefäße und periphere Markzellen, färbt sich gelb. In Z.K.R. untersucht, ergeben die mittleren Zellen des Markes Gelbbraunfärbung, während das Kollenchym, das in alten Internodien in Form tangential gedehnter Zellen vorliegt, den blaugrauen Hopmannton zeigt. Die Innenrinde unter dem kollenchymatischen Gewebe reagiert etwa wie das Mark, hier und da vielleicht auch andeutungsweise kollodisch. Siebteil und Kambium färben sich in Z.K.R. nicht so deutlich blaugrau wie das Kollenchym, alles Verholzte ist gelb. Soviel über Schnitte die nicht in E.d.J. gebadet worden sind. Legt man sie erst einige Minuten oder eine Viertelstunde in E.d.J., dann in Z.K.R. oder starkes JJK., so zeigt wiederum das Kollenchym sehr schön den Hopmannton, Rinde und Mark aber nicht, sie nehmen vielleicht einen ganz schwachen violetten Ton an. Schwächeres JJK. färbt das Kollenchym auch in Schnitten, die kurze Zeit mit E.d.J. behandelt worden sind, nicht. Wir untersuchen nun den Erfolg einer längeren E.d.J.-Behandlung. Dauert sie etwa 4 Stunden, so färbt sich das Kollenchym in JJK.-Lösungen blau, nicht blaugrau. Erst bei Behandlung mit Z.K.R. tritt der Hopmannton auf. Selbst nach 40-stündigem E.d.J.-Bad reagiert das Kollenchym noch kollodisch. Wir legen nun die Schnitte für etwa eine Woche in E.d.J. Nunmehr färbt JJK. oder Z.K.R. nur die verholzt gewesenen Wände gelb bezw. dunkelgelb; die Kollose ist also verschwunden. ClZnJ. färbt die Zellulose des inneren Markes, des Kollenchyms, des Siebteils und der Epidermis blauviolett, es ist also auch hier im Kollenchym ein wie Dextrosozellulose reagierendes Gerüst in kollodischen Membranen vorhanden.

Wir studieren [illegible]zt den Einfluß von Säuren auf die kollodischen Membranen der Sonnenblume. Kocht man die Schnitte in 4—5%iger HCl etwa ½—¾ Stunde, so zerfallen die Rinde und das Mark sehr stark. In Z.K.R. bleibt das Mark farblos, offenbar sind Begleitstoffe der Zellulose — hemizilluloseartiger Natur —, die ohne Säurebehandlung die gelbbraune Färbung in Z.K.R. bewirkt hatten, herausgelöst; ebenso wie das oben für die Zellwände der Kartoffelknolle nachgewiesen worden ist. In ClZnJ.

reaktionen, mit E. d. J. und sauerem JJK. wird sie blaugrau, d. h. kollodisch, in Kupferoxydammoniak blau, ohne sich zu lösen. Angaben über die Reaktionen anderer Gewebe finden sich nicht.

färben sie sich violett. Das Kollenchym wird mit ClZnJ. ebenfalls violett gefärbt, während es in Z.K.R. ziemlich farblos ist.

Legt man Helianthus-Schnitte in Kupferoxydammoniak, um sie sofort darin zu beobachten, so färben sich Kollenchym, Epidermis und auch das Sklerenchym und die Markzellen, soweit sie verholzt sind, blau; der Siebteil bleibt farblos, die Gefäße werden grünlich. Die inneren Rindenzellen und das unverholzte Mark färben sich nicht. Daran ändert eine vorherige Behandlung mit E.d.J. nichts. Wie diese Sachssche Reaktion ausfallen würde, wenn durch lange E.d.J.-Behandlung die Kollose ganz entfernt ist, habe ich nicht untersucht. Es empfiehlt sich, Kupferoxydammoniak mit Wasser zu verdünnen, um klare Bilder zu erhalten.

Bei dieser Gelegenheit wurde auch ein Blick auf die Haare geworfen und die eigenartige, näherer Untersuchung werte Tatsache ermittelt, daß die Borstenhaare deutlich kollodische Wandlamellen besitzen, nicht aber die Drüsenhaare.

Wir legen nun Helianthus Schnitte für 48 Stunden in Kupferoxydammoniak, um sie nach dem Auswaschen in Ammoniak und Wasser zu untersuchen. Die innere Rinde ist nun fast überall zerstört, das Mark nur noch in Fetzen vorhanden. Immerhin läßt sich, wenn auch nicht mit ganz unbedingter Sicherheit nachweisen, daß bei Behandlung mit Z.K.R. das Kollenchym den Hopmannton zeigt, Mark und Siebteil bleiben farblos. (In ClZnJ. ist ebenfalls das Mark ungefärbt, in den Zellen liegen blaue Sphärite.[23])

In den bis jetzt untersuchten Schnitten ist das Zellulosemark des Stengels der Sonnenblume dünnwandig und mit kleinen Interzellularen ausgestattet. Macht man nun aber Schnitte durch den Stengel dicht unter einer Infloreszens, da wo der Stengel sich oben konisch verbreitert, so zeigt das Mark ein anderes Bild: Es ist schwammig, d. h. mit großen Interzellularen versehen, und seine Wände sehen wie verquollen aus. Auch sind sie in dieser Region deutlich kollodisch, wie die Jod-Reaktionen ergeben. Das Gleiche gilt auch für die Rinde. Zweifellos hängt die andere chemische Zusammensetzung dieses dicht unter Inflores-

---

[23]) In Ruthenrumrotlösung sind die Mittellamellen des Kollenchyms, weniger seine Verdickungsschichten rot gefärbt, Rinde, Mark und Siebteil ebenso. Im Mark und in der Innenrinde ragen die Mittellamellen mit kleinen Knöpfchen in die Interzellularen hinein. Mit E. d. J. gebadete Schnitte zeigen nach wie vor die Mittellamellen rot gefärbt, die kollenchymatischen Verdickungsschichten dagegen nicht mehr.

zenzen liegenden Markes irgendwie mit deren Reizbewegungen zusammen.

*e) Vicia Faba:* Während in Helianthus somit eine Pflanze vorliegt, deren Mark-Zellwände, vom obersten Internodium abgesehen, Zellulosecharakter hatten, finden wir in der Pferdebohne, von welcher Pflanze sowohl ganz alte wie auch jüngere Exemplare zur Verfügung standen, ein Gewächs, bei welchem wir histochemische Unterschiede zwischen Mark und Rinde nicht mit Sicherheit nachweisen konnten. In älteren und auch in jüngeren Internodien reagieren beide Gewebe kollodisch; nur in den mit Adventivwurzeln reichlich besetzten Epikotyl gewann ich hier und da den Eindruck, daß das Mark weniger deutlich kollodisch sei als die Rinde. Auch hier war, falls überhaupt ein Unterschied zwischen älteren und jüngeren Internodien vorliegt, festzustellen, daß ältere eher deutlichere kollodische Reaktionen ergaben als jüngere. — Auch mittels der Blaufärbung durch Kupferoxydammoniak, die positiv ausfiel, war kein Unterschied zwischen Mark und Rinde zu finden. Es muß der Zukunft überlassen sein zu entscheiden, ob die Erscheinung, daß einige Pflanzen (z. B. Helianthus) — kurz gesagt — ein Zellulosemark, andere (z. B. Vicia Faba) ein kollodisches Mark haben, irgendwie mit funktionellen Unterschieden zusammenhängen mag.

*f) Phuopsis stylosa:* Zufällig wurde in Phuopsis stylosa eine Pflanze gefunden, welche die Kupferoxydammoniakfärbung ihres Kollenchyms besonders gut zeigte. Es wurden zunächst die folgenden Jodreaktionen mit Stengelquerschnitten vorgenommen: Ohne Behandlung mit E.d.J. wird das Kollenchym in JJK. nicht oder kaum gefärbt, in Z.K.R. dagegen dunkelblau bis schmutzig braunviolett. Nach 1½stündiger Behandlung in E.d.J. wurde das Kollenchym durch JJK. im Hopmannton gefärbt. In Z.K.R. wurde es schmutzig dunkelblau; ähnlich waren alle Bilder nach etwas länger dauerndem E.d.J.-Bad (bis zu 40 Stunden), der Siebteil war dann grau. van Wisselinghs Reagens gibt mit und ohne E.d.J.-Behandlung negative Resultate. Schneiden wir nun ein ausgewachsenes, 2—3 cm langes Internodium mitten durch, so finden wir, daß sich das Kollenchym in Kupferoxydammoniak prachtvoll blau färbt, nicht oder höchstens spurenweise blau das Mark, die Rinde und die chlorophyllhaltigen Zellen; deutlich blau erscheint das Holz, ungefärbt der Siebteil. Interessant und für eine spätere Analyse der Bewegungsvorgänge — unter Berücksichtigung der

Zellwandhistologie — von Wert ist die Beobachtung, daß Querschnitte durch die gelenkartige Basis der Internodien die Rinde deutlich blau und somit kollodisch erkennen ließen, während das Mark auch hier in Kupferoxydammoniak vollkommen farblos blieb. Ein jugendliches, ungefähr 2 3 mm langes Internodium zeigte Epidermis und Kollenchym blau, Rinde und Mark farblos. Es ließ sich also auch hier kein Anhalt dafür finden, daß die Zellulosewände des Markes vorher einen kollodischen Zustand durchlaufen. Wir können zusammenfassen, daß bei Phuopsis die Kupferfärbung besonders gut gelingt, daß die Jodfärbungen insbesondere mit Z.K.R., aber eher weniger erfreuliche Resultate geben. Vielleicht liegt eine etwas andere (dichtere?) Modifikation der Kollose vor als etwa bei Ricinus.

Färbt man Phuopsis-Schnitte mit Brillantkongoblau, so bleibt an nicht weiter vorbehandelten Schnitten das Kollenchym farblos — vielleicht gelblich —, ebenso die äußere Epidermiswand. Die Rinde wird blauviolett, die Endodermis ähnlich, die Siebteile werden blau, die Gefäße gelblichrot bis violett, der Caspary-sche Streifen bleibt farblos. Legt man die Schnitte kurze Zeit in E.d.J., so färbt sich nunmehr in Brillantkongoblaulösung das Kollenchym rötlich; falls E.d.J. aber 24 Stunden gewirkt hat, dann zeigt sich das Kollenchym stark verquollen und wird in dem genannten Farbstoff blau gefärbt. E.d.J. lockert also das Zellwandgefüge.

*g) Hoya carnosa:* Wir kommen zur Besprechung der Porzellanblume, Hoya carnosa, die schon von Hopmann untersucht worden ist. Aus dessen Arbeit sei hier nur soviel hervorgehoben, daß der amyloidische Zustand der Milchröhrenwände in älteren und in jüngeren Entwicklungsstadien leicht zu beobachten ist, daß hier ferner die amyloidische bezw. kollodische Reaktion der Zellwände der Rinde auch im ausgewachsenen Zustande besonders deutlich und zumal nach längerer Behandlung in E.d.J. sehr auffallend ist.

Untersuchen wir zunächst den Querschnitt durch ein ausgewachsenes, jedenfalls nicht zu jugendliches Internodium oder durch einen nicht zu jungen Blattstiel, so sehen wir, daß sich beim Einlegen in schwaches JJK. die peripheren Teile der Rinde hellblau, in stärkeres JJK. blau bis blaugrau färben, und daß Z.K.R. einen blaugrauen Ton in dem genannten Gewebe bedingt; doch ist dieser Ton nicht sehr klar, sondern mehr schmutzig =

violett. Ganz einwandfrei blau werden aber, im Einklang mit Hopmann, die Milchröhrenwände. Diese sind also nach unserer Bezeichnungsweise als zweifelsfrei amyloidisch zu bezeichnen, während die Rinde vielleicht eher kollodisch genannt werden kann, obwohl sie in ihren Reaktionen sich dem Amyloid etwas zu nähern scheint. Das Mark wird ohne Vorbehandlung mit E.d.J. in Z.K.R. nicht deutlich kollodisch.

Alle diese Bilder werden sauberer, wenn man die Schnitte vorher etwa 1/4 Stunde lang in E.d.J. einlegt. Läßt man E.d.J. 6 Stunden wirken, worin — wie auch in verdünnten Säuren — die Wände stark verquellen, so wird in Z.K.R. die Außenrinde hellblaugrau, die innere Rinde bleibt fast farblos. Das Mark wird nicht gefärbt. In schwächeren JJK.-Lösungen wird die Außenrinde hellblau. Zu erwähnen ist auch, daß das Phellogen nach kurzer E.d.J.-Behandlung sich in JJK. oder Z.K.R. sehr schön blau färbt. Wirkt E.d.J. 40 Stunden oder noch länger, so ergeben Jodlösungen überhaupt kaum mehr eine Blaufärbung, die kollodische Reaktion fällt also dann negativ aus; allenfalls zeigt sie sich an solchen Schnitten, die in sehr starker JJK.-Lösung liegen bei nachherigem Wasserzusatz (vgl. Hopmann S. 18, 25, 34).

Legt man Schnitte in Schweizers Reagens, so zeigt sofortige Beobachtung, daß die Rinde sich außen hellblau färbt; die inneren Partien, desgl. das Mark bleiben ungefärbt. Läßt man Kupferoxydammoniak längere Zeit bis zur Entfernung der Zellulose einwirken, so bleibt nunmehr Mark und Rinde in ClZnJ. farblos. das. Holz wird dunkelblau-schwarz, die Rinde in Z.K.R. oder besser in JJK. blau bis schmutzig blaugrau.

Hoya-Stengel sind nun, wie schon angedeutet, gute Objekte für die Untersuchung, wie ältere Stadien sich von jüngeren in ihrer Zellwandhistochemie unterscheiden. — Es zeigt sich dabei, daß erst in nicht zu jungen Stadien der kollodische Zustand auftritt und seinerseits nie einem Zellulosestadium weicht. — Der Vegetationspunkt des Sprosses, längs geschnitten, zeigt kein amyloidisches Stadium, auch kein kollodisches, nicht einmal nach E.d.J.-Behandlung. In jungen Internodien waren nur die Milchröhrenwandungen amyloidisch. Auch in Internodien, die eben der Länge nach ausgewachsen sind (Steinzellwände noch ganz dünn), war keine Blaufärbung in Jodlösungen zu sehen, auch nicht in älteren Internodien mit schon stark verdickten Steinzellwänden. Erst viel weiter unten stehende Internodien zeigten dann

die Rinde deutlich amyloidisch oder besser kollodisch. Die Milchröhren waren auch hier noch deutlich amyloidisch. — Die Blattstiele hatten erst im reiferen Alter kollodisches Parenchym, vielleicht etwas früher als die Internodien, an denen sie sitzen. In ganz jungen Blattstielen (z. B. Stiel 3 mm, Spreite 5 mm lang) wird durch JJK. mit oder ohne vorherige E.d.J.-Behandlung nichts blau gefärbt außer den Wandungen der Milchröhren.

Ganz eigenartig sind bei Hoya die schönen Amyloidzwickel, die wir oben bei Ricinus (S. 27) schon erwähnt haben. Sie verschwinden, wenn man E.d.J. 20 Stunden einwirken läßt. Falls die Zwickel nur teilweise mit Amyloid gefüllt sind, so können sie leicht Stärkekörner vortäuschen. Untersuchen wir sie in den Blattstielen etwas genauer, so sehen wir, daß sie hier erst dann auftreten, wenn die betreffenden Organe ein bestimmtes Alter erreicht haben und schon ein verkorktes Hautgewebe besitzen. In den Stielen ausgewachsener Blätter, die noch unverkorkt und noch behaart sind, treten sie nicht oder nur vereinzelt auf. Ob aber Ziegenspeck mit seiner Hypothese, daß das Amyloid dieser Zwickel durch die Zellwand in die Interzellularen ergossen wird, recht hat, oder ob Amyloid dann auftritt, wenn ursprünglich solide Zwickel verquellen, sich auflösen und schließlich Interzellularräume werden, müßte erst eine genauere Untersuchung entscheiden, wie oben schon für Ricinus ausgeführt ist.[24])

*h) Helodea canadensis:* Als Beispiel für eine submerse Pflanze wählen wir Helodea. Querschnitte durch ältere oder jüngere, etwa bis zur Hälfte ihrer endgültigen Länge gestreckte Internodien, in E.d.J. kurz gebleicht und dann in ZKR. untersucht, ergeben ganz zweifellos deutliche kollodische Färbung der Rinde und der Epidermis, während die Wände des Zentralzylinders mehr braun und die Caspary schen Streifen rotbraun werden. Unterschiede zwischen älteren und jüngeren Internodien fand ich nicht.

*i) Mimosa pudica:* Interessante Verhältnisse fand Ziegenspeck besonders in den Gelenkpostern der Mimosa Spegazzini, die im folgenden für Mimosa pudica zu bestätigen sind.[25]) Ich untersuchte kräftige, im Warmhaus gezogene Pflan-

[24]) Die merkwürdige Histochemie der Hoya-Zellwände hängt wohl irgendwie mit der bekannten, eigenartigen Konsistenz ihrer Blätter und anderer Organe zusammen. — (Vgl. was Ziegenspeck 1925, S. 301 über Lycopodium Selago sagt).

[25]) Vergleiche für Mimosa auch: v. Guttenberg, H., Planta 1928, Bd. 6, S. 798 ff.

zen und zwar zuerst die primären Blattstiele oberhalb der Polster, deren Bau v. Guttenberg, wie folgt, beschreibt: „Oberhalb des Polsters hat der Blattstiel am Querschnitt die Form eines auf der Spitze stehenden Dreiecks. Vier Gefäßbündel bilden einen stark nach außen gerückten Ring und werden von einer ununterbrochenen Bastscheide umgeben. Zwei weitere Bündel verlaufen in den oberen Dreieckskanten, gleichfalls von kräftigen Bastsicheln begleitet." Ergänzend sei hinzugefügt, daß nach oben und seitlich vom Sklerenchymring auch Chlorenchym mit großen Interzellularen liegt; wo solches nicht vorhanden ist, grenzt der Sklerenchymring nach außen an die Rinde, die nach der Epidermis hin mehr und mehr kollenchymatisch wird. Legt man Querschnitte durch den Blattstiel von Mimosa pudica für kurze Zeit in E.d.J. und dann nach Wässerung in ZKR., so zeigt die Epidermis und das darunterliegende Kollenchym deutlich blaugraue Färbung, letztere um so deutlicher, je weiter außen es liegt. Die Siebteile sind heller blau als das Kollenchym, nicht gebläut ist das Mark und das eben genannte schwammige Chlorenchym. Alles Verholzte, d. h. die Sklerenchymringe und -sicheln, ist braungelb.

Legt man Querschnitte ohne vorherige E.d.J.-Behandlung in starke JJK.-Lösungen, so ist in der Färbung der beiden Zellulosemodifikationen ein Unterschied kenntlich: Kollenchym und Epidermis haben zweifellos einen deutlicheren Stich ins Violette als Mark und Chlorenchym. Wendet man nun aber gleichfalls ohne Vorbehandlung ZKR. statt JJK. an, so wird dieser Unterschied überaus klar; Epidermis und hypodermale Schichten zeigen deutlich den Hopmannton, sie werden etwas heller zum Sklerenchym hin, der Siebteil ist ebenfalls gefärbt, Mark und Chlorenchym erscheinen gelblich. Noch klarer wird das alles, wenn man die Schnitte vorher in E.d.J. badet. Klar, mit schön blauer Wandung treten Gruppen kleiner Zellen zwischen den Siebröhren hervor, deren Bedeutung vielleicht irgendwie mit der Mechanik der Reizleitung zusammenhängen kann.

Legen wir Querschnitte durch den Blattstiel in Kupferoxydammoniak, so wird die Kutikula gelb-grünlich, die Radial- und Innenwände der Epidermis werden deutlich blau, ihre Außenwände weniger deutlich. Die zwei Schichten unter der Epidermis (Kollenchym) färben sich ebenfalls blau, himmelblau die verquollenen Sklerenchymwandungen. Die Siebteile sind nicht gefärbt, die

Gefäßgruppen etwas schmutzig-blau, Mark und Chlorenchym bleiben ungefärbt.

Legt man die Schnitte vorher ¼ Stunde in 5%ige $H_2SO_4$, so lösen sich nachher in Kupferoxydammoniak alle Zellinwände auf, ohne daß ein Unterschied zwischen Mark und Chlorenchym einerseits und Kollenchym andererseits zu beobachten wäre. Im Mark scheinen dünne Mittellamellen übrig zu bleiben (vgl. A. Meyer, Bot. Prakt., 1915, S. 38.)

In ClZnJ. färbt sich das Mark und Chlorenchym blauviolett, dünne farblose Mittellamellen sind vorhanden. Das Kollenchym färbt sich ebenfalls blauviolett, die Färbung nimmt aber nach der Mittellamelle hin ab, im Sklerenchym sind ebenso die Mittellamellen farblos, die Verdickungsschichten hellviolett und die Gefäße hellgelb. Phloruglucin und Salzsäure zeigen die Gefäße und die Mittellamellen des Sklerenchyms rot, die Verdickungsschichten des Sklerenchyms aber kaum gerötet.

Wir wenden uns den Querschnitten durch das Gelenk zu. Legen wir solche für ¼ Stunde in E.d.J. und dann in ZKR., so färben sich die dicken gequollenen Wände des Parenchyms der oberen Polsterhälfte blaugrau und die unteren garnicht. Ohne E.d.J. ergeben sich ähnliche aber weniger deutliche Bilder. Auch die Verwendung starker JJK.-Lösungen führt zu gleichen Ergebnissen; JJK. in der von A. Meyer angegebenen Konzentration erlaubt, eben noch einen Unterschied zwischen oberem und unterem Parenchym zu erkennen, van Wisselinghs Reagens aber läßt wegen allzu starker Jodarmut keine Unterscheidung mehr zu. Jodlösungen, die eben noch blaue Zellwandtönungen in der oberen Polsterhälfte ergeben, bewirken, wenn man ihre Jodkonzentration steigert, mehr graublaue Töne. Der kollenchymartige Ring rings um das Phloem zeigt bei entsprechender Behandlung ebenfalls den Hopmannton, das Holz in der Mitte wird dunkelbraun.

Legt man einen Querschnitt durch das Gelenk in Kupferoxydammoniak, so wird das Holz dunkelblau und der Kollenchymring etwas heller blau. Die Färbung des Polsterparenchyms ist nicht deutlich zu erkennen, weil der Inhalt der Zellen sich mit Kupferoxydammoniak braunrot färbt. Immerhin ist in einigen Zellen des dickwandigen Parenchyms der Oberseite eine mehr oder weniger deutliche Bläuung der Zellwände zu erkennen, aber sicher nicht im Parenchym der unteren Hälfte. Bessere, sonst entsprechende Bilder ergibt vorherige Behandlung mit E.d.J.

Canavalia ensiformis zeigt, wie zu erwarten ist, an der Gelenkoberseite keine kollodischen Zellwände.

*k) Blattgewebe:* Im Anschluß an die oben erwähnten Strünke des Blumenkohls war es von Interesse, auch dessen Blätter zu untersuchen. Beobachtet man nicht weiter behandelte Querschnitte durch Blätter in JJK., so zeigt das Kollenchym in den Nerven den Hopmannton und die Siebteile werden hellblau; Kollenchym und Siebteile nennen wir amyloidisch. Legt man die Schnitte 1/1 Stunde lang in E.d.J., so werden nunmehr in van Wisselinghs Reagens die Kollenchympartien blau und die Siebteile ganz hellblau, JJK. gibt ähnliche Bilder, aber kräftigere Farben; in ZKR. ist alles dunkler gefärbt. Studieren wir nun das Mesophyll, so wird es nach kurzer Behandlung mit E.d.J. in JJK. und in van Wisselinghs Reagens ganz bestimmt nicht kollodisch reagieren; für ZKR. gilt etwa dasselbe, nur gelang es mir nicht, ganz sicher zu entscheiden, ob in diesem Jodpräparat nicht auch das Mesophyll einen — wenngleich nur schwachen und undeutlichen — kollodischen Ton erhält. Jedenfalls aber sprechen Kollenchym und Chlorenchym auf Jodreagenzien verschieden an.

Wir besprechen einige weitere Blätter: In seiner schon öfters zitierten Arbeit hat Pringsheim darauf aufmerksam gemacht, „daß in Gemüsen offenbar jene Zellwandmodifikation vorliege, die man im Anschluß an Ziegenspeck als Kollose bezeichnen kann". Ich hielt es daher für wünschenswert zu untersuchen, ob vielleicht die Mesophyllzellen einiger weiterer Blätter, die der menschlichen Ernährung dienen, in ihren histochemischen Reaktionen von anderen Blättern, die nicht zur Ernährung verwendet werden, abweichen. Ich verglich somit Blätter von Brassica campestris (ebenso verhält sich Crambe maritima) mit solchen von Syringa vulgaris, und, um auch ein sukkulentes Blatt heranzuziehen, mit dem von Mesembrianthemum Haworthi. Die Schnitte gelangten zuerst für 1/1 Stunde in E.d.J. und dann in Jodlösung. Das Blatt von Mesembrianthemum zeigt in JJK. keinerlei Färbung seiner Zellwände und in ZKR. wohl eine etwas schmutzig-violette Verfärbung der zentralen Zellwände, aber keinen recht deutlichen Hopmannton. Syringa- und Brassica-Blätter verhielten sich untereinander ähnlich. Sie zeigten in JJK. deutliche Bläuung des Kollenchyms in den Nerven, das Mesophyll aber reagierte weder bei der einen noch bei der anderen Pflanze wie Kollose. Der sklerenchymatische Belag der Leitbündel von Brassica färbte sich in JJK. schön blau. Wen-

dete man ZKR. an, so wurde der in JJK. blaue Ton mehr blaugrau. Das Mesophyll zeigte auch in ZKR. keine deutliche Verfärbung. Jedenfalls war kein Unterschied zwischen Gemüsen und Nichtgemüsen nachweisbar.

In einigen weiteren Versuchen wurde das Blatt von Nerium Oleander untersucht (s. Hopmann, S. 32). Nach E.d.J.-Behandlung waren bei Nerium die Gewebepartien, die von den Leitbündeln zur Epidermis führen, ferner die Epidermis- und Wassergewebszellen in ZKR. blau bis blaugrau. Das war auch der Fall nach mehrtägiger Behandlung mit E.d.J., nach welcher gegenüber JJK. dann nichts mehr kollodisch reagierte. Der Unterschied zwischen dem nichtkollodischen Mesophyll und dem Kollenchym war jedenfalls auch beim Oleanderblatt deutlich.

Es wurden dann noch Blätter von Hoya untersucht. Hier reagierte das Mesophyll jedoch deutlich kollodisch; das mag mit der eigenartigen Konsistenz ihrer Blätter irgendwie zusammenhängen.

Kollodisch reagierte nach E.d.J.-Behandlung das ganze Mesophyll der Blätter von Triticum junceum, besonders deutlich reagierten aber die sogenannten Gelenkzellen.[26]) Ihre Zellwände zeigen sich in ZKR. deutlich blau oder blaugrau gefärbt, besonders die dicken Außenwände unter der Kutikula, die an den anderen Stellen der Blätter nicht kollodisch reagieren. Sehr deutlich blaugrau werden auch die Siebteile gefärbt.

An panaschierten Blättern von Evonymus japonica stellte ich fest, daß sich die Wände chlorophyllfreier und chlorophyllführender Mesophyllzellen des Blattes nicht unterscheiden.

Zu untersuchen wären noch die von J. Meyer zitierten Beispiele kollenchymatischer Assimilationszellen (s. Hdb. der Pflanzenanatomie, Trophisches Parenchym, IV, 1, 1923, S. 40).

Einige Untersuchungen an Blattstielen und Blättern von Rumex conglomeratus ergaben folgendes: Die Blaufärbung des Kollenchyms mit JJK.-Lösungen tritt hier schon ohne vorherige Behandlung mit E.d.J. hervor, wenn auch nicht besonders schön. Mindestens muß man im Zweifel bleiben, ob man ohne weiteres von Amyloidie reden kann. Legt man Schnitte durch den Blattstiel eines ziemlich alten Blattes für etwa 20 Minuten in E.d.J., so werden nachher Kollenchym und Siebteile in nicht zu starken JJK.-Lösungen hellblau. Die innersten Kollenchymlamellen färben

---

[26]) Vergleiche dazu Benecke, 1930, S. 127.

sich dunkler als die äußeren. – Sehr auffällig ist auch das Auftreten der Amyloidzwickel zwischen den Kollenchymzellen. Ich beobachtete sie zumal im oberen Teil des Blattstieles älterer Blätter. Nimmt man junge Blätter z. B. solche, deren Stiel erst 2 cm lang ist und noch in der Ochrea steckt, während die Spreite noch ganz eingerollt ist, so kann man darin keine Amyloidzwickel finden. Sie treten also auch hier, wie bei Hoya, nachträglich auf.

*l) Ilex aquifolium.* Das Verhalten der Zellinwände sekundär verdickter Achsen untersuchte ich zunächst an Querschnitten durch den Sproß von Ilex aquifolium. Ilex ist bekanntlich das Testobjekt von F. Schwarz. Wir wollen daher einige Färbungsversuche mit Brillantkongoblau vorausschicken. Legt man Schnitte in eine 0,1%ige Lösung dieses Farbstoffes, so zeigen sich nach etwa 24 Stunden die Kutikularschichten gelb, die innerste Schicht der Epidermisaußenwand rot, die Rinde blau, ebenfalls das Kollenchym mit fast farblosen Mittellamellen, Siebteil und Kambium intensiv blau gefärbt, die Sklerenchymfasern des gemischten Rings erschienen rötlich und die sie begleitenden Steinzellen farblos. Dies gilt für Schnitte, die kurz mit Alkohol und dann ¼ Stunde mit E.d.J. behandelt worden waren. Meine Befunde decken sich also im wesentlichen mit denen von Schwarz und Czaja.

Wir wenden uns nun den Reaktionen zu, welche durch Jodlösungen bedingt werden. Wie die Betrachtung eines nicht mit E.d.J. behandelten Querschnittes in ClZnJ. lehrt, färbt sich die gesamte Rinde zwischen Holzkörpern und Epidermis mit Ausnahme der Bastfasern und der Steinzellen blauviolett. In ZKR. zeigt die Rinde eine eher etwas schwache Kollosereaktion; das Kambium wird blau, aber deutlicher als der Siebteil. Verwendet man JJK., so erhält man das gleiche Bild, doch ist alles weniger deutlich. Legt man die Schnitte etwa 1 Stunde in E.d.J., so ergibt nun ZKR. eine ausgezeichnet schöne Hopmannfärbung der Zellinwände der Rinde; Kambium und Siebteil sind eher schwächer und mehr blau als blaugrau gefärbt. JJK. gibt ähnliche Bilder; van Wisselinghs Reagens veranlaßt einen eben sichtbaren, aber ganz hellen, graublauen Schimmer über der Rinde. Genauere Untersuchungen müßten noch weiter zwischen der Färbung der Rindenparenchymzellen, des Siebteils, des Kambiums und des Kollenchyms zu differenzieren suchen.

Ich prüfte noch die Sachssche Reaktion, wobei sich zeigte, daß die Rinde mit Einschluß des Kollenchyms sich sehr deutlich,

Kambium und Siebteil weniger deutlich blau färbt. Es sei noch erwähnt, daß die kollodischen Membranen, wie üblich, im Gegensatz zu Zellulosellamellen in schwacher Säure stark verquellen. Aber ein Aufkochen in 5%iger $H_2SO_4$ während $^1/_4$ Stunde genügt noch nicht, um die Kollosereaktion zu vernichten.

Soviel ist sicher, daß die sogenannten Zellinwände der Stechpalme nicht als Zellulose, sondern als kollodische Membranen zu bezeichnen sind. Im Gegensatz zur Apfelkollose und in Uebereinstimmung mit der Kollose in anderen Kollenchymen ergibt jedoch die Ilex-Kollose in van Wisselinghs Reagens bei nicht all zu lang ausgedehnter Behandlung höchstens eine nur schwache Blaufärbung.

*m) Tilia ulmifolia.* Ich untersuchte sodann sechsjährige Lindenzweige (Tilia ulmifolia). Sie wurden ½ Stunde in E.d.J. gelegt, dann nach dem Auswaschen in ZKR. Alles, was außerhalb des Kambiums lag, mit Ausnahme derjenigen Elemente, die sich mit Phlorglucin rot färbten, sowie das Kambium selbst, färbte sich deutlich hellgraublau d. h. im Hopmannton. Die verholzten Teile der Rinde wurden schon nach kurzer E.d.J.-Behandlung in Phloroglucin und Salzsäure kaum mehr rot, in Jodlösungen aber noch intensiv gelbbraun. Wurden derartige Schnitte 24 Stunden in E.d.J. gebadet und dann in ZKR. gelegt, so waren nunmehr die Zellinwände außerhalb des Kambiums und auch dieses selbst farblos. Deutlich blau färbten sich nur die Bastfasern, zumal ihre Mittellamellen, und die anderen verholzt gewesenen Zellen der Rinde. Der Holzring war unbestimmt graugrün gefärbt.

Legen wir nun Lindenschnitte in Schweizers Reagens, um sofort zu beobachten, so zeigt sich kein sehr schön differenziertes Bild. Deutlich blau gefärbt ist die kollenchymatische primäre Rinde, sehr schön himmelblau die Bastfasern. Das jugendlichste Holz ist blau, der übrige Holzkörper schmutzig blaugrün. Ziemlich unsicher ist die Färbung im Kambium, in den Markstrahlen und auch im Phloem. Hier liegt also wieder ein Fall vor, in welchem in Uebereinstimmung mit Ziegenspeck die Kollosereaktion mittels Jod und die Sachssche Reaktion mittels Kupferoxydammoniak sich nicht decken. Ich habe die Linde im Winter untersucht; der Vergleich dieser Ergebnisse mit solchen, die während der vollen Kambiumtätigkeit gefunden werden, wäre sehr erwünscht.[27])

[27]) Vergleiche dazu die Angaben bei Schellenberg (1905) über Bau und Funktion der Membranen des Phloemparenchyms von Baumrinden.

Bei Tilia wurden auch einige Färbungsversuche an Schnitten gemacht, die kurze Zeit in Alkohol und E.d.J., dann 24 Stunden in Brillantkongoblaulösung gelegt worden waren. Es färbten sich Kambium, Siebteile und Markstrahlendigungen in der Rinde blau, ebenso das Mark; der Kork wurde gelblich, das Holz violett-rötlich, die Bastfasern hellviolett-gelblich, die Mittellamellen dunkler. Legt man solche Schnitte erst 24 Stunden in E.d.J. und dann in Brillantkongoblaulösung, so wird nunmehr das Holz fast blau mit einem rötlichen Schein und Kambium und Siebteile sattblau.[28])

*n) Wurzeln von Zea Mays:* Da es mir bei der Untersuchung oberirdischer Teile nur in vereinzelten Fällen gelungen ist, sichere Anhaltspunkte für die Richtigkeit der Ziegenspeckschen Hypothese, daß Zellulosewände zunächst einen kollodischen Zustand zu durchlaufen haben, zu gewinnen, wandte ich mich noch der Untersuchung der von Hopmann (S. 33 ff.) bereits sehr genau studierten Wurzel von Zea Mays zu. In der Tat gelang es mir, in deren Rinde ein Gewebe zu finden, das im jugendlichen Zustand kollodisch reagiert, um später Zelluloselamellen aufzuweisen.

Wie Hopmann ausführt, hat an der Keimwurzel von Zea Mays die wachsende Zone eine Länge von etwa 6 mm. Die Hauptstreckung findet in einer Zone statt, deren distales Ende 2 mm und deren proximales Ende 4 mm von der Spitze liegt. Hier verlängert sich diese Zone in 24 Stunden um das Dreifache ihrer ursprünglichen Länge, d. h. von 2 mm auf 6 mm. Was die Qualität der Rindenparenchymzellen betrifft, so sagt Hopmann, daß ihre Wände bis zu einer Entfernung von 1 cm von der Spitze „amyloidisch" seien und sehr deutlich „amyloidisch" etwa 5 mm von der Spitze entfernt. Legt man die Querschnitte in 2 cm Entfernung von der Spitze, so fehlt die „Amyloidie" der Rindenzellwände ganz sicher. Da nun Hopmann (S. 34) außerdem sagt,

---

[28]) Legt man die Querschnitte durch das Holz 24 Stunden in E.d.J., so ist die Phloroglucin-Salzsäure-Reaktion negativ. Doch färben sie sich in JJK-Lösungen noch gelb.

F. Schwarz schreibt: „Durch die Einwirkung von E. d. J. können zwar jene Stoffe zerstört werden, welche die Phloroglucinreaktion geben, doch hat dies für die Färbung mit substantiven Farbstoffen keine Bedeutung".

Hier sind die Gründe wohl dieselben, welche auch bewirken, daß nach Herauslösen des Hadromals doch noch die Gelbfärbung mit Jod erhalten bleibt. (l. c. S. 35).

Auch ich konnte immer wieder beobachten, daß Zellwände, die mit Phloroglucin-Salzsäure nicht mehr reagieren, wenn man sie mit E. d. J. oder Kalilauge entholzt hat und sie dann die ClZnJ-Reaktion geben, gleichwohl mit Jodlösung sich noch ebenso gelb färben, als wenn die Entholzung unterblieben wäre. (Vgl. auch Heß und Mitarbeiter, Kolloidzeitschrift 1930, Bd. 51, S. 89).

daß ohne vorherige E.d.J.-Behandlung wohl die Amyloidie nicht sicher nachzuweisen sei, wird es nötig sein zu untersuchen, ob nicht der Ausdruck „Amyloidie" besser durch „kollodischen Zustand" zu ersetzen sei. Dem ist in der Tat so, wie die folgenden Untersuchungen erweisen.

Wir züchten Maiskeimlinge in Sägemehl und legen an verschiedenen Stellen Querschnitte durch ihre Wurzeln: Von einer 16 cm langen Wurzel wurden Querschnitte angefertigt, die ¼ cm, 8 cm und 16 cm von der Spitze entfernt lagen. Wurden diese ohne E.d.J.-Behandlung in JJK.-Lösung gelegt, so war an dem Schnitt, der nur ¼ cm von der Spitze entfernt lag, nichts Sicheres über die Qualität der Zellwand zu erkennen, weil die Zellen allzu reichlichen Inhalt führten. Zwar waren in ZKR. die Wände der großen Gefäße recht deutlich im Hopmannton gefärbt, jedoch war die Reaktion der Rindenparenchymzellen undeutlich. Der Schnitt, welcher 8 cm oder 16 cm hinter der Spitze lag, zeigte nichts Kollodisches, weder in JJK. noch in ZKR. Auch die Wurzelhaare waren nicht kollodisch gefärbt. Nun wurden solche Schnitte 20 Minuten lang in E.d.J. gelegt. Jetzt zeigten sich die Rindenzellen in dem Schnitt, der ¼ cm hinter der Spitze lag, in ZKR. sehr deutlich blau bis dunkelblaugrau; in JJK. war die Färbung ähnlich, aber weniger deutlich. 8 cm hinter der Spitze waren die Rindenzellen nicht mehr kollodisch, vielmehr rötlichbraun tingiert; die Wurzelhaare waren jetzt kollodisch gefärbt und ebenso die großen Gefäße. (Dies gilt für die Behandlung in ZKR., sowie mit JJK.-Lösungen.) Auch an dem Schnitt, welcher 16 cm hinter der Spitze geführt war, reagierte außer den Wurzelhaaren nichts kollodisch. Die Rindenzellen waren in ZKR. gelbbraun, vielleicht mit einem Stich ins Violette, jedenfalls aber nicht im Hopmannton gefärbt. Weitere derartige Untersuchungen führten zum gleichen Ergebnis. Wir können also Hopmann bestätigen mit der Einschränkung, daß es sich wohl empfehlen dürfte, die Membranen der jugendlichen Rindenzellen kollodisch, nicht aber amyloidisch zu nennen. Die Wände der älteren Rindenzellen besitzen, wie wir einstweilen sagen dürfen, Zelluloselamellen, denn sie reagieren bestimmt nicht kollodisch, enthalten aber zweifellos außer Zellulose nicht unerhebliche Beimengungen, wie ihre gelbbraune Färbung in JJK. ergibt. Wir erwähnen noch — wie ja schon aus den Hopmannschen Ausführungen hervorgeht, — daß sich sowohl die soeben als kollodisch bezeichneten Lamellen als auch die

Rindenwände, die wir als Zelluloselamellen angesprochen haben, in ClZnJ. gleichmäßig blauviolett färben.

Amyloidisch reagieren auf Schnitten durch die Wurzelspitze die der Auflösung verfallenden Tracheenquerwände. Diese hatte, worauf Ziegenspeck hinweist, schon Strasburger (1902, S. 147) untersucht und von ihnen gesagt, daß sie in ihrer Zusammensetzung dem Amyloid nahe stehen und sich deshalb schon ohne Ueberführung in Amyloid mit sauren Farbstoffen färben lassen. Ich fand solche amyloidische Tracheenquerwände in jungen Stengelgliedern beim Mais u. anderen Pflanzen, ferner in Wurzeln von Holcus lanatus, Triticum sativum, Hordeum vulgare, Dactylis glomerata, usw. Sie dürften also allgemein verbreitet sein. Sie färben sich, wie ich fand, nicht nur mit JJK. sondern auch mit ZKR. Ich sah sie mir am genauesten in den Wurzelspitzen von Zea Mays an. An einem einige Tage alten Keimling sind sie nicht unmittelbar an der Spitze als amyloidisch kenntlich, sondern erst ungefähr 1 mm von der Spitze entfernt, wo die Länge der einzelnen Tracheenglieder etwa 60 my, die Breite etwa 40 my. beträgt. Geht man von da spitzenwärts, so schwindet die deutliche Amyloidie mehr und mehr, und hat man sich der Spitze soweit genähert, daß Länge und Breite in den Tracheengliedern ziemlich gleich sind, so färben sie sich nicht mehr mit Jodlösungen. Geht man umgekehrt in der Richtung nach dem Wurzelhalse zu, so sieht man, wie die amyloidischen Querwände aufgelöst werden. Der Lösungsprozeß geht so vor sich, daß sich in der Mitte der amyloidischen Querplatte, wo diese deutlicher gequollen ist als am Rande, ein Loch bildet und sie sich allmählich nach dem Rande zu auflöst, wobei dann nur die bekannten Ringe an der Längswand erhalten bleiben. Bei den von mir untersuchten Monokotylen waren die Querplatten in weiterer Entfernung von der Wurzelspitze noch erhalten als bei den von mir studierten Dikotylen. (Vicia, Helianthus, Lupinus, Ricinus.)

In histochemischer Hinsicht kann nur soviel gesagt werden, daß die ganz jungen noch nicht amyloidisch reagierenden Querwände auch keine deutliche Zellulosereaktion mit ClZnJ. zeigten, wohl aber sehr deutliche Rotfärbung mit Rutheniumrot. Auch die bereits amyloidisch reagierenden Querwände zeigen intensive Pektinfärbung mit Rutheniumrot. Es wäre verfrüht, aus diesen Beobachtungen irgendwelche Schlüsse über die Beziehungen zwischen amyloidisch reagierenden und Pektinreaktion zeigenden Wandlamellen zu ziehen.

## 2. *Zusammenfassung von Teil II.*

1. Das Verhalten der Kollenchymzellwände gegen Chlorzinkjod und Rutheniumrotlösungen ist aus der Literatur bekannt.

2. Für die Färbung von Kollenchymzellwänden mit neutralen oder sauren Jodjodkalium-Lösungen gilt dasselbe, was im Teil I für die kollodischen Wände des Apfelgewebes gesagt worden ist: In den meisten Fällen gelingt es nicht, ohne vorherige Eau de Javelle-Behandlung brauchbare, saubere Färbungen durch neutrale oder saure Jodjodkalium-Lösungen zu erzielen. Nach kurzer Einwirkung von E.d.J. aber färben sich die meisten untersuchten Kollenchyme in neutraler Jod-Lösung blau, oft mit einem Stich ins Graue, in saurer, dem Ziegenspeckschen Kollosereagens, im allgemeinen mehr graublau; sie können somit im mikroskopischen Bilde von „Zelluloselamellen" unterschieden werden.

3. Gilt das Gesagte für die Mehrzahl der Kollenchyme (z. B. Kürbis, S. 27), so gibt es auch andere, mit jenen durch viele Uebergänge verbundene, welche sich in Jodjodkalium-Lösungen ohne Vorbehandlung mit Eau de Javelle blau, zum Teil mehr blaugrau färben und nach unserer Bezeichnungsweise als amyloidisch zu benennen sind. Auch bei solchen tritt die Färbung durch Jodlösungen vielfach nach kurzer Eau de Javelle-Behandlung besonders klar hervor. (Z. B. Kollenchym von Ricinus, S. 24, von Hoya, S. 33, viele Blattkollenchyme, S. 38.) Die genannten Kollenchymfärbungen sind übrigens je nach der vorliegenden Spezies, je nach der Einwirkungsdauer der Reagenzien und je nach der Dicke der Schnitte mehr oder weniger rein; häufig sieht man einen braunen, gelben, auch violetten Unterton. (Z. B. Origanum, S. 29.) Im Verhalten gegen verschiedene jodarme Lösungen, z. B. van Wisselinghs Amyloid-Reagens, unterscheiden sich ebenfalls verschiedene Kollenchyme. Die meisten bleiben im genannten Reagens auch nach Behandlung mit Eau de Javelle farblos (u. a. Cucurbita-Kollenchym, S. 27), andere färben sich darin schön himmelblau (Ilex, S. 40; Ricinus, S. 24; Blattkollenchyme, S. 38).

4. Ein durchgreifender Unterschied im Verhalten älterer und jüngerer Kollenchyme einer und derselben Pflanze konnte nicht festgestellt werden. (Von den allerersten Entwicklungsstadien und von jenen Fällen, in welchen Kollenchyme im Alter verholzen, ist dabei abgesehen.)

5. Die Frage, worin die eben genannte Wirkung von Eau de Javelle besteht, muß offen gelassen werden. Einige Versuche mit Farbstoffen (Brillantkongoblau, S. 28) deuten daraufhin, daß mit dieser Lauge behandelte Kollenchyme (Cucurbita) den Farbstoff in Form und Farbe größerer Teilchen in sich einlagern als vor der Behandlung mit Eau de Javelle. Die Kollenchymzellwände werden also, im Einklang mit dem, was oben (Teil I) für die Zellwände des Apfelgewebes ermittelt oder doch sehr wahrscheinlich gemacht werden konnte, irgendwie in ihrem Gefüge gelockert. — Daß kollodische Wände ihr Verhalten gegenüber Jodreagenzien durch hinreichend lange Behandlung mit Eau de Javelle oder mit verdünnten Säuren verlieren, gilt auch für die Kollenchyme. Uebrig bleibt dann eine Grundlage, welche die Zellulose-Reaktion gibt.

6. Sämtliche Kollenchyme, soweit untersucht, ergeben mit Schweizers Reagens, das oft vorteilhafter im verdünnten Zustand angewendet werden kann, die Sachssche Reaktion. (U. a. besonders schön bei Phuopsis, S. 32.)

7. Die Epidermen zeigen dieselben histochemischen Reaktionen wie die Kollenchyme (de Bary).

Ueber Haare vergleiche S. 31.

8. Die Phloeme reagieren gegen Jodlösungen kollodisch, bald ebenso stark, bald weniger als die Kollenchyme. (Sehr deutlich reagieren neben vielen anderen die von Cucurbita, S. 27, und von Triticum junceum, S. 55.) — Die Sachssche Reaktion geben sie zum Teil ebenso deutlich (Cucurbita, S. 27) wie Kollenchyme, zum Teil fällt sie sehr schwach (Helianthus, S. 31) oder ganz negativ aus.[29]) — Nähere Untersuchung der Siebteile und auch der Kambien, die auch teilweise kollodisch reagieren, zumal zu verschiedenen Jahreszeiten, ist erforderlich (Ilex, S. 40).

9. Beispiele dafür, daß — wie aus der Literatur schon lange bekannt — Membranlamellen, die später verholzen, nicht wie Zellulose reagieren, sondern kollodisch sind, finden sich an verschiedenen Stellen im Text.[30])

---

[29]) Ueber die Sachssche Reaktion bei verholzten Zellwänden s. Tilia, S. 42 und Mimosa, S. 36.

[30]) Beispiele dafür, daß verholzte Lamellen, auch wenn sie infolge von KOH- oder E. d. J.-Behandlung die Phloroglucinreaktion nicht mehr geben, nicht wie Zellulose reagieren, finden sich auf S. 29 (Salvia), S. 41 (Tilia).

10. Ein Beispiel dafür, daß Zelluloselamellen vorher einen kollodischen Zustand durchlaufen, liefert die Rinde der Keimwurzel vom Mais (S. 42), ein weiteres die Kotyledonen von Ricinus (S. 25). In einer großen Zahl anderer Fälle ist der Uebergang von kollodischen in Zelluloselamellen nicht nachzuweisen.

11. Bemerkenswerte Beispiele für das Vorkommen kollodischer Zellwände liefern, abgesehen von den Kollenchymen, sekundäre Rinden (Tilia, S. 41 und Ilex, S. 40), ferner die Rinde der Internodien von Helodea (S. 35).

12. Die Zellen des Mesophylls (S. 38 ff.) lassen in den untersuchten Fällen im Gegensatz zu Epidermen und Wassergeweben kollodische Reaktionen vermissen, sie besitzen Zellulosewände. Das gilt auch für sukkulente Blätter; eine Ausnahme aber machen die Blätter von Hoya (S. 39)) und Triticum junceum (S. 39), welche kollodisch reagierendes Mesophyll aufweisen. Auch das Gewebe der Kotyledonen der Mandel, der Haselnuß und der Ricinussamen hat kollodische Wände.

13. Das Mark ist, wenn wir von der eventuellen Verholzung absehen, bei einigen Pflanzen (z. B. Vicia Faba, S. 32) durch kollodische Wände, bei den anderen (z. B. Helianthus) durch Zellulosezellwände ausgezeichnet.

Alle die genannten Beispiele entstammen einer ziemlich willkürlichen Auswahl der verschiedensten Wurzel- und Sproßteile. Eine systematische Durchforschung solcher Objekte steht noch aus.

14. Beispiele dafür, daß die kollodische Qualität der Wände irgendwie mit Reizbewegungen der Gewebe, in denen sie sich finden, zusammenhängen muß, finden sich, abgesehen von dem von Ziegenspeck entdeckten Vorkommnis in den Gelenken von Mimosa (S. 36), auch in den gelenkartigen Teilen der Internodien von Phuopsis (S. 33), ferner bei Helianthus (Mark des obersten Internodiums unter der Infloreszenz, S. 31).

15. Ueber die Reaktionen einer Anzahl von Casparyschen Punkten, die nebenher beachtet wurden, siehe S. 28, 33, 35.

16. Ueber „amyloidische Zwickel" siehe Seite 26, 35, 40. Ueber amyloidische Milchröhren siehe Seite 34 (Hoya). Ueber die amyloidischen Tracheenquerwände, die der Auflösung verfallen, siehe Seite 44.

Vorliegende Arbeit wurde im Botanischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster i. Westfalen unter Leitung von Herrn Professor Dr. Beneckе ausgeführt. Es sei mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Benecke, auch an dieser Stelle meinen Dank auszusprechen für seine Anregungen zu dieser Arbeit und für seine gütige Unterstützung bei ihrer Ausführung. Herrn Professor Dr. Mevius und Herrn Dr. Roberg bin ich ferner für den mir stets freundlichst gewährten Rat zu großem Danke verpflichtet.

## E. Literaturverzeichnis.


*Ambronn, H.*, Ueber die Entwicklungsgeschichte und die mechanischen Eigenschaften des Collenchyms. Jahrb. f. wiss. Bot. 1879/81, Bd. *12*, S. 473.

*Anderson, D. B.*, Microchemical Study of the Structure and Development of Flax Fibers. Amer. Journ. Bot., 1927, Vol. *14*, S. 187.

— Ueber die Struktur der Kollenchymwände. Sitzber. Akad. Wiss. Wien, Math. Natur. Kl. Abt. 1, 1927, Bd. 136, S. 429.

*Archbold, H. K.*, Chemical Studies in the Physiology of Apples. II. The Nitrogen Content of Stored Apples. III. The Estimation of Dry Weight and the Amount of Cell-wall Material in Apples. Ann. Bot. 1925, Vol. *39*, S. 97 u. 109.

*Bary*, de, A., Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane der Phanerogamen und Farne. Leipzig 1877.

*Benecke, W.*, Zur Biologie der Strand- und Dünenflora, I. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 1930, Bd. *48*, S. 127.

*Buscalioni, L.*, Sopra un caso di incapsulamento dei granuli d'amido. Malpighia, Anno X, 1896.

— — I granuli d' amido incapsulati della Vicia narbonensis. Soc. Nat. Modena Ser. II, Bd. *16*, Anno 31. 1898.

— — Sopra un caso rarissimo di granuli d'amido incapsulati nel tegumento seminale delle Vicia di Narbona. Bulletino d. Soc. bot. Ital. 12. Dez. 1897.

— — Sopra un novo di caso incapsulamento dei granuli di amido. Malpighia 1899, Anno XIII.

— — Sopra un novo di caso incapsulamento dei granuli di amido. Malpighia 1899, Anno XIII.

*Czaja, A. Th.*, Die Analyse der metachromatischen Färbungen von Pflanzengeweben mit organischen Farbstoffen. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 1930, Bd. 48, S. 100.

— — Untersuchungen über metachromatische Färbungen von Pflanzengeweben. Planta 1930, Bd. *11*, S. 582.

*Carré, M. H.*, The Relation of Pectose and Pectine in Apple Tissue. Biochem. Journ. 1925, Vol. *19*, S. 257.

— — Chemical Studies in the Physiology of Apples. IV. Investigations on the Pectic Constituents of Apples. Ann. Bot. 1925, Vol. *39*, S. 811.

*Carré, M. H. and Horne, A. S.*, An Investigation of the Behaviour of Pectic Materials in Apples and other Plant Tissues. Ann. Bot. 1927, Vol. *41*, S. 193.

*Chauveaud*, zit. nach Léger p. 55.
*Cohn, J.*, Beiträge zur Physiologie des Collenchyms. Jahrb. wiss. Bot. 1892, Bd. *24*, S. 145.
*Deutsches Arzneibuch*, 6. Ausgabe, Berlin 1926 (D.A.B. 6).
*Ehrlich, F.*, Chemie der Pektinstoffe. Forschungen und Fortschritte, 1929, S. 320.
*Funk, G.*, Beiträge zur Kenntnis der mechanischen Gewebesysteme in Stengel und Blatt der Umbelliferen. Beih. Bot. Centralbl. 1912/13, Bd. *29*, S. 219. Abt. 1.
*Giltay, E.*, Einiges über das Collenchym. Bot. Zeit. 1881, Jahrg. *39*, S. 153.
— — Sur le collenchyme. Arch. Néerl. 1882, T. *17*, S. 1.
*Guttenberg, von, H.*, Zur Kenntnis lebender Bewegungsmechanismen. Planta, 1926, Bd. *1*, S. 666.
*Haberlandt, G.*, Mikroskopische Untersuchungen über Zellwandverdauung. Beitr. z. allgem. Bot. 1918, Bd. *1*, S. 501,
— — Physiologische Pflanzenanatomie. 6. Aufl. Leipzig 1924.
*Haynes, D.*, Chemical Studies in the Physiology of Apples. I. Change in the Acid Content of Stored Apples and its Physiological Significance. Ann. Bot. 1925, Vol. *39*, S. 77.
*Hill, A. W.*, The histology of the sivetubes of Pinus. Ann. of. Bot. 1901, Vol. *15*, p. 575.
*Hoffmeister, W.*, Die Rohfaser und einige Formen der Zellulose. Landwirtsch. Jahrb. 1888, S. 239.
— — Die Zellulose und ihre Formen. Ebenda 1889, S. 767.
*Hopmann, O.*, Ueber das Vorkommen und die Mikrochemie des Amyloids in pflanzlichen Zellhäuten. Diss. Münster 1930.
*Lecomte, H.*, Contribution a l' étude du liber des Angiospermes. Ann. de Sc. nat. Bot., 7e série, T. *10*, 1889.
*Léger, L. J.*, Recherches sur l' origine et les transformations des éléments libériens. Mém. Soc. Linn. Normandie 1897, T. *19*, p. 164.
*Lesage, P.*, Sur la différenciation du liber dans la racine. Compt. rend. Akad. Sc. 1891.
*Lignier, O.*, Recherches sur l'anatomie comparée des Calycanthées. Arch. Bot. du Nord de la France. 1886/87, T. *3*.
*Mangin, L.*, Sur les réactifs jodés de la cellulose. Bull. Soc. Bot. de France, 1888, T. *35*, S. 421.
*Märkert, M.*, Ueber die thermonastische Blütenbewegung von Tulipa. Bot. Archiv 1931, Bd. *33*, S. 501.
*Meyer, A.*, Erstes mikroskopisches Praktikum. 3. Aufl., Jena 1915.
*Meyer, F. J.*, Das trophische Parenchym. Handb. d. Pflanzenanatomie. Band IV, 1 Berlin 1923.
*Molisch, H.*, Mikrochemie der Pflanzen. Jena 1913.
*Müller, C.*, Ein Beitrag zur Kenntnis der Formen des Collenchyms. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 1890, Bd. *8*, S. 150.
*Murneek, A. E.*, Hemicellulose as a storage carbohydrate in woody plants, with special reference to the apple. Plant Physiol. 1929, Vol. *4*, S. 251.

*Nägeli, von, C.*, Die Reaktion von Jod auf Stärkekörner und Zellmembranen. Bot. Mitth. 1863, Bd. 1, S. 251, 283, 323.
— — Ueber die chemische Zusammensetzung der Stärkekörner und Zellmembranen. Ebenda S. 387.
*Norman*, A. G., Studies on Pectin. Biochem. Journ. 1927, Vol. 22, S. 749.
*Nägeli, v., C.* und *Schwendener, S.*, Das Mikroskop. 2. Aufl. Leipzig 1877.
*Priestley J. H.* and *Tupper-Carey, R. M.*, The composition of the cell wall at the apical mer of stem and root. Proc. Royal Soc. Bot. 1923, Vol. *95*, S. 109.
*Pringsheim, E. G.*, Untersuchungen über Turgordehnung und Membranbeschaffenheit. Jahrb. wiss. Bot. 1931, Bd. *74*, S. 749.
*Rothert, W.*, Gewebe der Pflanzen. Handwörterb. d. Naturw. 1. Aufl. 1913, Bd. *4*, S. 1144.
*Sachs, J.*, Mikrochemische Untersuchungen. Flora 1862, Bd. *20*, S. 289.
— — Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. Leipzig 1882.
*Schacht, H.*, Lehrbuch der Anatomie und Physiologie der Gewächse. Berlin 1856/59.
*Schellenberg, H. C.*, Ueber Hemicellulosen als Reservestoffe bei unseren Waldbäumen. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 1905, Bd. *23*, S. 36.
*Schmidt, E. W.*, Bau und Funktion der Siebröhren. Jena 1917.
*Schneider, H.* — *Zimmermann, H.*, Die Botanische Mikrotechnik. Jena 1922.
*Schwarz, F.*, Metachromatische Färbungen pflanzlicher Zellwände durch substantive Farbstoffe. I. u. II. Ber. Dtsch. Bot. Ges. 1924, Bd. *42*, S. 21 u. 28.
*Schwendener, S.*, Das mechanische Prinzip. Leipzig 1874.
*Strasburger, E.* und *Körnicke, M.*, Botanisches Praktikum. 6. Aufl. Jena 1921, 7. Aufl., Jena 1923.
*Tupper-Carey R. M.* and *Priestley, J. H.*, The cell in the radicle of Vicia Faba and the shape of the meristematic cells. New Phytolog. 1924, Vol. *23*, S. 156.
*Wisselingh*, van, E., Mikrochemische Untersuchungen über die Zellwände der Fungi. Jahrb. wiss. Bot. 1898, Bd. *31*, S. 619.
— — Die Zellmembran. Handb. d. Pflanzenanatomie. Bd. III 2, Berlin 1925.
*Zacharow, J. P.*, Die Acetongärung. Zentralbl. f. Bakter. Abt. II, 1930, Bd. *80*, S. 205.
*Ziegenspeck, H.*, Ueber Zwischenprodukte des Aufbaues von Kohlehydrat-Zellwänden und deren mechanische Eigenschaften. Bot. Archiv 1925, Bd. *9*, S. 297.
— — Zur Theorie der Bewegungs- und Wachstumserscheinungen bei Pflanzen. Ebenda 1928, Bd. *21*, S. 449.

## Lebenslauf.

Ich, Johannes Kasselmann, katholischen Bekenntnisses, wurde geboren am 12. Mai 1904 zu Papenburg (Ems), Kreis Aschendorf. Nach Besuch der Volksschule und des Realgymnasiums meiner Vaterstadt erhielt ich am 19. Februar 1923 das Reifezeugnis. Zum Studium der Mathematik und Naturwissenschaften besuchte ich von Ostern 1926 bis Ostern 1930 die Universität zu Münster i. Westf. Am 29. Mai 1929 legte ich in Münster i. Westf. die Mittelschullehrerprüfung ab und bestand daselbst am 10. Juli 1931 die Prüfung für das Lehramt an höheren Schulen.